BnF Gallica

# Bulletin de l'Académie nationale de médecine

Source gallica.bnf.fr / Bibliothèque de l'Académie nationale de médecine

BnF Gallica

Académie nationale de médecine (France). Auteur du texte.
Bulletin de l'Académie nationale de médecine. 1996-02-06.

**1/** Les contenus accessibles sur le site Gallica sont pour la plupart des reproductions numériques d'oeuvres tombées dans le domaine public provenant des collections de la BnF. Leur réutilisation s'inscrit dans le cadre de la loi n°78-753 du 17 juillet 1978 :
- La réutilisation non commerciale de ces contenus ou dans le cadre d'une publication académique ou scientifique est libre et gratuite dans le respect de la législation en vigueur et notamment du maintien de la mention de source des contenus telle que précisée ci-après : « Source gallica.bnf.fr / Bibliothèque nationale de France » ou « Source gallica.bnf.fr / BnF ».
- La réutilisation commerciale de ces contenus est payante et fait l'objet d'une licence. Est entendue par réutilisation commerciale la revente de contenus sous forme de produits élaborés ou de fourniture de service ou toute autre réutilisation des contenus générant directement des revenus : publication vendue (à l'exception des ouvrages académiques ou scientifiques), une exposition, une production audiovisuelle, un service ou un produit payant, un support à vocation promotionnelle etc.

CLIQUER ICI POUR ACCÉDER AUX TARIFS ET À LA LICENCE

**2/** Les contenus de Gallica sont la propriété de la BnF au sens de l'article L.2112-1 du code général de la propriété des personnes publiques.

**3/** Quelques contenus sont soumis à un régime de réutilisation particulier. Il s'agit :

- des reproductions de documents protégés par un droit d'auteur appartenant à un tiers. Ces documents ne peuvent être réutilisés, sauf dans le cadre de la copie privée, sans l'autorisation préalable du titulaire des droits.
- des reproductions de documents conservés dans les bibliothèques ou autres institutions partenaires. Ceux-ci sont signalés par la mention Source gallica.BnF.fr / Bibliothèque municipale de ... (ou autre partenaire). L'utilisateur est invité à s'informer auprès de ces bibliothèques de leurs conditions de réutilisation.

**4/** Gallica constitue une base de données, dont la BnF est le producteur, protégée au sens des articles L341-1 et suivants du code de la propriété intellectuelle.

**5/** Les présentes conditions d'utilisation des contenus de Gallica sont régies par la loi française. En cas de réutilisation prévue dans un autre pays, il appartient à chaque utilisateur de vérifier la conformité de son projet avec le droit de ce pays.

**6/** L'utilisateur s'engage à respecter les présentes conditions d'utilisation ainsi que la législation en vigueur, notamment en matière de propriété intellectuelle. En cas de non respect de ces dispositions, il est notamment passible d'une amende prévue par la loi du 17 juillet 1978.

**7/** Pour obtenir un document de Gallica en haute définition, contacter
**utilisation.commerciale@bnf.fr**.

ISSN 0001-4079

# Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine

**TOME 180 N° 2** - 6, 13, 20, 27 FÉVRIER 1996

*Publication périodique mensuelle*

Source gallica.bnf.fr / Bibliothèque de l'Académie nationale de médecine

Tome 180 — N° 2 Février 1996

# BULLETIN DE L'ACADÉMIE NATIONALE DE MÉDECINE

publié par MM.

Raymond BASTIN, Secrétaire perpétuel

et Louis AUQUIER, Secrétaire adjoint

*Les sommaires du «Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine» sont reproduits dans les «Current Contents» de l'Institute for Scientific Information (Philadelphie). Les articles sont indexés dans le «Bioresearch Index» du Biosciences Information Service (Philadelphie), dans l'index Medicus, dans Excerpta medica et dans le « Bulletin Signalétique » du C.N.R.S. (Paris).*

## SOMMAIRE

**Eloge**

de Henri BAYLON par Charles LAVERDANT..... 283

**Communications**

Jeanne BRUGÈRE-PICOUX : *Encéphalopathie spongiforme bovine et maladie de Creutzfeldt-Jakob. Actualités* ..... 291

Commentaires : M. Maurice GUÉNIOT

Discussion : MM. GAUTIER, PILET, DE THÉ, MONTAGNIER, DAVID.

Michel BRAHIC : *L'infection de la souris par le virus de Theiler ; un modèle pour l'étude des maladies démyélinisantes du système nerveux central.* 305

Discussion : MM. CAMBIER, BOUREL.

Jean-Yves PETIT, Andrée LEHMANN : *Apport de la chirurgie plastique dans le traitement du cancer du sein* ..... 317

Discussion : MM. DUFOURMENTEL, de GENNES, PICARD, AUQUIER, MERCADIER..

Alain CARPENTIER : *Transformations tissulaires induites et chirurgie cardiaque*..... 363

Discussion : MM. GROSGOGEAT, MAURICE, MERCADIER, THOMAS, NORDMANN, MICHEL F.B.

Daniel LOISANCE, Denis TIXIER, Christophe BEAUFRETON, Philippe DELEUZE, Jean-Philippe MAZZUCOTELLI, Paul LE BESNERAIS, Walid DIHMIS, Frédéric POUILLART, Christophe BENVENUTI : *L'assistance mécanique ventriculaire portable* ..... 381

Discussion : MM. BINET, GROSGOGEAT, BOUVRAIN, GUÉNIOT.

Henri LESTRADET : *La découverte de l'insuline* ..... 437

Discussion : MM. GUÉNIOT, GUINET, HOLLENDER, POLONOVSKI, ARTHUIS

Jean-Pierre MAGNOL, Imène GHERNATI, Thierry MARCHAL, Luc CHABANNE, Agnès DELVERDIER, Corinne FOURNEL : *Données cliniques, morphologiques et immunophénotypiques à partir de 10 observations de lymphome T cutanéo-muqueux épidermotrope du chien (analogue au* Micosis Fongoïde*). Intérêt d'un modèle animal de pathologie spontanée*..... 447

Discussion : MM. CIVATTE, PILET

Pierre JOLY : *Responsabilités et médicaments génériques* ..... 451

Discussion : MM. NORDMANN, RAOUL, SUREAU, COMBESCOT, PERCHERON, COTTET, SOURNIA, ARON, PICHOT, BOULARD, GOULON, GUÉNIOT.

Raymond ARDAILLOU, Dominique CHANSEL : *L'angiotensine IV, un nouveau composant du système rénine-angiotensine actif sur les cellules rénales* ..... 473

Discussion : MM. LARCAN, NORDMANN, CIER, RICHET, MOLINA.

**Rapports**

Pierre DESGREZ (au nom de la Commission XI) : *Sur la demande d'autorisation de transporter à distance l'eau des captages Pavillon et Légère, et d'exploiter à l'émergence et après transport à distance l'eau des captages Great-Source et Thierry-Lorraine, situés à Contrexéville (Vosges)* ..... 333

Robert LAPLANE, Georges DAVID (au nom d'un Groupe de travail) : *Assistance Médicale à la Procréation. Problèmes médicaux actuels*

- Rapport ..... 397
- Bibliographie ..... 413
- Recommandations de l'Académie ..... 415

André CORNET (au nom de la Commission XI) : *Sur la demande d'autorisation d'exploiter comme eau minérale naturelle, à l'émergence, après transport à distance et mélange, l'eau des captages de Mey-Est et de Mey-Ouest, situés à Saint-Gervais-les-Bains (Haute-Savoie)* .. 419

**Vœu**

Alain RÉRAT, Jeanne BRUGÈRE-PICOUX : *concernant l'encéphalopathie spongiforme bovine (ESB) et la maladie de Creutzfeldt-Jakob* ..... 361

**Séances**

du 6 février 1996..... 283

du 13 février 1996..... 363

du 20 février 1996..... 437

du 27 février 1996..... 463

**Actes**..... 488

## CONTENTS

Jeanne BRUGÈRE-PICOUX : *Bovine spongiform encephalopathy and Creutzfeldt-Jakob disease. Current news*..... 291

Michel BRAHIC : *The infection of mouse by Theiler's virus ; a model for the study of demyelinating diseases of the central nervous system*... 305

Jean-Yves PETIT, Andrée LEHMANN : *Role of the plastic surgery in the treatment of breast can cancer*..... 317

Alain CARPENTIER : *Induced tissue transformation. Applications to cardiac surgery*..... 363

Daniel LOISANCE, Denis TIXIER, Christophe BEAUFRETON, Philippe DELEUZE, Jean-Philippe MAZZUCOTELLI, Paul LE BESNERAIS, Walid DIHMIS, Frédéric POUILLART, Christophe BENVENUTI : *Wearable mechanical circulatory support* ..... 381

Henri LESTRADET : *The discovery of insuline* ..... 435

Jean-Pierre MAGNOL, Imène GHERNATI, Thierry MARCHAL, Luc CHABANNE, Agnès DELVERDIER, Corinne FOURNEL : *Clinical, histological and immunohistochemical data from 10 cases of canine mucocutaneous epitheliotropic lymphomas (Mycosis fungoides-like). Usefulness of a spontaneous disease model* ..... 447

Pierre JOLY : *Consequences of generics in France* ..... 461

Raymond ARDAILLOU, Dominique CHANSEL : *Angiotensin IV, a new component of the renin angiotensin system with renal effects* ..... 473

# BULLETIN DE L'ACADÉMIE NATIONALE DE MÉDECINE

## RECOMMANDATIONS AUX AUTEURS

Le Secrétaire perpétuel et le Secrétaire-adjoint, assistés d'un Comité de Lecture, sont responsables de la publication du *Bulletin de l'Académie nationale de médecine*. Pour chacun des textes qui ont été acceptés et présentés, l'Académie prend en charge huit pages du Bulletin soit 26 500 caractères. Tout dépassement sera facturé à l'auteur à raison de 400 francs la page.

Le texte fourni en trois exemplaires sera structuré en paragraphes homogènes, en évitant le style télégraphique, l'abus des alinéas, les successions de mots ou de phrases précédées d'un tiret, une numérotation superflue des propositions. Les titres et sous-titres seront détachés. Les sigles et abréviations seront explicités lors de leur première apparition dans le texte. Les molécules (médicaments ou non) apparaîtront sous leur dénomination commune internationale.

Les communications seront rédigées suivant la norme scientifique en chapitres distincts : introduction, malades et méthodes, résultats, discussion. Pour les lectures, l'agencement des paragraphes doit faire apparaître la structure de l'exposé et les étapes du raisonnement.

Le titre en français de l'article figurera sur une première page, avec le prénom et le nom des auteurs ainsi que leur adresse et le lieu où pourront être demandés les tirés-à-part. Le résumé français sera accompagné des mots-clés répertoriés à l'*Index Medicus*. Le titre en anglais et un résumé anglais plus détaillé que le résumé français seront joints.

L'iconographie sera limitée à 4 tableaux ou documents photographiques. Chacun portera au dos un numéro et une indication de positionnement. Les légendes seront rédigées sur une feuille indépendante, numérotées suivant leur ordre dans le texte. Les diapositives seront tirées sur papier.

La bibliographie sera classée suivant l'ordre d'apparition dans le texte.

La version définitive devra être fournie sur disquette. La correction des épreuves sera exclusivement d'ordre typographique. Toute modification du texte initial sera facturée à l'auteur.

Trente tirés-à-part seront fournis gratuitement. Des tirés-à-part supplémentaires peuvent être exécutés aux frais des auteurs.

Avant d'entreprendre la rédaction de leur texte, les auteurs sont invités à se procurer les « Consignes détaillées », à l'adresse ci-dessous.

**Secrétariat de l'Académie nationale de médecine**
**16, rue Bonaparte**
**75272 Paris Cedex 06**
*Tél : 42.34.57.73 — Fax : 40.46.87.55*

*Bull. Acad. Natle. Méd.*, 1996, *180*, n° 2, 283-289, séance du 6 février 1996

# Éloge de Henri BAYLON (1913-1994)

Charles LAVERDANT

Je ressens comme un honneur d'avoir à prononcer devant vous l'éloge de notre ancien président, le médecin général Baylon, confrère aimé de tous parce qu'il portait en lui l'exceptionnel. Lui rendre cet hommage est aussi un devoir car si on doit des égards aux vivants, on doit à ceux qui sont disparus au terme d'une noble existence d'étaler leurs vertus. A titre personnel je ne peux pas non plus oublier que la gratitude va de pair avec l'éloge.

Henri Baylon est né le 15 février 1913 à Billom, petite cité d'Auvergne célèbre par ses églises, ses monuments médiévaux, et son ancien collège de jésuites, devenu lycée militaire au XIX^e^ siècle (on disait alors école d'Enfants de Troupe). Son père, officier de carrière, faisait partie des cadres de cette institution qui devait fournir au pays nombre de militaires de haut rang. Malheureusement l'avenir immédiat n'allait pas se montrer bienveillant pour le jeune auvergnat, perdant sa mère dès les premiers jours de sa vie, et voyant son père engagé sur le front au début des combats de la grande guerre. Elevé par des proches, hors du contexte affectif de l'enfance, pensionnaire avant l'âge, il eut au moins la chance de retrouver ce père en 1919, sorti miraculeusement indemne de la tourmente et put, dès lors, reporter sur lui tous les sentiments qu'il n'avait pas eu le loisir d'exprimer. Ce fut en particulier le cas, par la suite, au moment

*Bull. Acad. Natle. Méd.*, 1996, *180*, n° 2, 283-289, séance du 6 février 1996

des vacances pendant lesquelles il quittait avec joie les murs gris et froids du lycée Pascal de Clermont-Ferrand où il était interne. De cette enfance et de cette adolescence austère et studieuse, Henry Baylon conservait un souvenir quelque peu teinté d'amertume où les rigueurs des hivers le disputaient à l'isolement. Sans doute est-ce à Clermont qu'il forgea sa personnalité, bien convaincu, dès son adolescence, que l'avenir ne dépendrait que de lui-même. Résolu à entreprendre des études médicales, il entre brillamment à l'Ecole de Santé militaire de Lyon en 1932. Etudiant appliqué, il aborde avec succès les concours hospitaliers civils et, jeune docteur en médecine, rejoint l'Ecole d'application du Val-de-Grâce en 1937.

Médecin du dixième Bataillon de chasseurs à pied, il va rapidement participer aux campagnes de Belgique et de France et sera malheureusement fait prisonnier. Suivent alors quatre longues années pendant lesquelles il se dévoue au service des malades du Stalag 194, puis à celui des patients d'un hôpital de camp, en Lorraine. Libéré fin 1944, il est aussitôt affecté, expérience oblige, à la tête du service de médecine de l'hôpital complémentaire de Nancy, puis à l'hôpital anglais de Nice. En 1946, on le trouve dirigeant la clinique médicale de l'hôpital d'évacuation de Trèves et préparant déjà activement l'assistanat de médecine des hôpitaux militaires. Nommé au concours, il revient au Val-de-Grâce pour trois ans à l'issue desquels il est reçu au médicat. Pendant presque deux années, il est alors confronté à la médecine d'urgence au sein du régiment de sapeurs-pompiers de Paris, puis fort d'une exceptionnelle expérience de terrain, revient au Val-de-Grâce. Adjoint, puis chef de l'un des services de médecine, il ne quittera plus l'institution. Agrégé en 1952, il est élu titulaire de la chaire d'hygiène militaire en 1959 et est admis comme auditeur à la dix-septième session de l'Institut des Hautes Etudes de la Défense Nationale. Sept années plus tard lui est confiée l'Inspection technique des services d'hygiène et d'épidémiologie des Armées. Appelé à diriger l'Ecole du Val-de-Grâce de 1968 à 1973, il achève sa carrière comme Inspecteur général du Service de santé des armées en 1975. Comme vous le savez, il s'agira là d'une fausse retraite. Membre de diverses commissions de santé publique, il est en effet élu dans la troisième section de notre compagnie en 1980. Secrétaire très actif, puis Président de cette section en 1989, il devient Président de l'Académie en 1992.

Au cours de ces quelques trente années de carrière hospitalière et technique, Henri Baylon suscite, anime et réalise de multiples travaux. Ceux-ci, conduits dans son service comme sur le terrain, rendent compte de sa double spécialité d'interniste (avant tout nutritionniste et néphrologue) et d'hygiéniste, à laquelle il était très attaché. A quelques décennies de distance, on constate aujourd'hui que nombre de ces études n'ont rien perdu de leur actualité.

Ainsi, en est-il d'abord, de celles qui ont les infections typho-paratyphoïdiques pour objet. A l'époque où les armées devaient en effet connaître, en Afrique du Nord, une importante épidémie, Henri Baylon reprend, au cours de multiples mises au point, la description d'une maladie désormais modi-

fiée par l'antibiothérapie. Ainsi en est-il également des toxi-infections alimentaires collectives. Si les infections à *Salmonella* sont, en effet, bien connues depuis la fin du XIX^e^ siècle, objet au Val-de-Grâce avec Sacquépée de multiples travaux, les infections à staphylocoques n'apparaissent en France qu'après le second conflit mondial. Henri Baylon va prendre part aux études consacrées à celles-ci et réaliser à leur propos, en 1960, une revue synthétique. Il rédige ainsi à la demande du ministre une notice clinique, épidémiologique et prophylactique, toujours de règle, à quelques adjonctions près liées aux variations de morbidité. Il s'intéresse également aux manifestations extra-hépatiques de l'hépatite épidémique, autre fléau des armées. Longtemps méconnues, voire d'authenticité discutée, les manifestations neurologiques périphériques de cette affection virale ont aujourd'hui trouvé droit de cité, surtout depuis leur recensement dans les armées en 1970 puis 1980, même si c'est à l'école suisse de Markoff qu'on doit leur première relation en 1943. Dès 1949-1950, il regroupe ainsi les observations initiales, simulatrices en particulier du syndrome de Guilain-Barré, mais d'évolution toujours spontanément régressive. Ses travaux seront ultérieurement largement confirmés, bien que la physiopathologie d'une telle atteinte demeure toujours aussi mystérieuse.

Les accidents aigus de déshydratation (1962), vont entrer à leur tour dans le champ d'intérêt du Professeur Baylon. Il est vrai que la question est alors de grande actualité au moment où de nombreux corps expéditionnaires sont engagés outre-mer, en ambiance thermique élevée, et où les problèmes physiopathologiques soulevés par le bilan hydrique sont encore loin d'être élucidés. S'intéressant aux conditions de lutte contre l'hyperthermie, il réalise une étude exhaustive du sujet, et publie les résultats au cours de colloques internationaux à l'issue desquels sont définies les grandes règles de la prévention, toujours appliquées, touchant à la méthodologie de sélection des individus exposés, l'acclimatement, le respect de l'équilibre nutritionnel, etc. Dans le même esprit, il entreprend, en 1969, l'étude du coup de chaleur et de son insuffisance rénale liée à une « coagulopathie de consommation ». Là encore, il indique les mesures prophylactiques essentielles et codifie le traitement fondé sur la réfrigération, la lutte contre le collapsus et l'oxygénation, lesquels demeurent la base essentielle de toute action curative.

A travers ces dernières préoccupations, c'est aussi le clinicien, le néphrologue surtout, qui s'exprime. Sa collaboration avec Jean Hamburger (dont il accueille d'ailleurs les internes dans son service) va alors le conduire à figurer parmi les pionniers de l'hémodialyse de suppléance et à aborder les grands domaines de la néphrologie intéressant le milieu militaire. On lui doit ainsi une première étude des protéinuries intermittentes du jeune adulte, effectuée à partir de plusieurs centaines d'observations. Il montre à cette occasion l'intérêt de l'exploration urographique qui permet de révéler la fréquente existence d'anomalies congénitales. Après Pasteur-Vallery-Radot et son école, il confirme que, dans la moitié des cas, l'évolution se fait en dix à quinze ans vers une

néphropathie hypertensive. Puis il se passionne pour les protéinuries occasionnelles, montrant la difficulté de leur exploration que seule pourrait résoudre une biopsie rénale, éthiquement injustifiable dans la mesure où elles se révèlent de bon pronostic.

Le traitement des lithiases urinaires, celui de la maladie néphrotique, les néphropathies interstitielles, les insuffisances rénales aiguës réversibles, l'évolution des polykystoses sont, à l'époque, autant d'autres sujets abordés avec bonheur. Enfin, toujours dans le même domaine, on lui doit des mises au point du plus haut intérêt en matière de néphropathies post-vaccinales dont il recrute plusieurs dizaines de cas dans son service et parmi lesquelles il distingue les atteintes précoces, presque immédiates (avec leur forme hématurique et leur forme oligo-anurique), guérissant sans séquelles, et les atteintes tardives, du septième au quinzième jour, génératrices de séquelles (et où dominent hypertension, hématurie permanente et importante protéinurie). Il montre que le vaccin T.A.B.D.T. est le plus souvent cause mais qu'avant d'admettre sa responsabilité, au demeurant très rare, il convient d'éliminer toute néphropathie préexistante ou intercurrente.

Dans son service où le recrutement des maladies métaboliques est également important, Henri Baylon s'intéresse aussi au diabète du sujet jeune. Sa détection, les épreuves dynamiques d'exploration du métabolisme hydrocarboné, l'incidence et la prévalence dans la collectivité militaire font ainsi l'objet de travaux très remarqués. Dès 1957, il figure en outre parmi les premiers auteurs impliqués dans le traitement sulfamidé. Enfin, en hygiéniste pragmatique, il démontre que sport et diabète ne sont pas incompatibles et indique même, avec précision, que la pratique sportive chez le jeune est susceptible d'intervenir favorablement sur les troubles du métabolisme glucidique.

La retraite venue, Henri Baylon expose encore — en particulier à la Tribune de l'Académie — plusieurs études portant sur l'immunoprophylaxie des hépatites virales, la prévention du tétanos, les hyperlipémies du jeune. Et, pour achever cet impressionnant panorama, faut-il ajouter aussi l'œuvre de l'historien, en citant en particulier une plaquette parue en 1975 sur la contribution de l'Ecole du Val-de-Grâce à l'évolution des sciences médicales (reprise et actualisée en 1993 dans le volume consacré à l'institution à l'occasion de son bicentenaire), un travail consacré à Villemin et d'autres, à J. F. Costes, D. Larrey et A. Laveran.

Tel fut le clinicien, l'épidémiologiste et même l'historien. Mais, vous le savez bien, l'administrateur et le chef d'Ecole ne leur cèdent en rien. Ainsi, en même temps qu'il dote son service d'une unité d'hémodialyse, devenu le grand service que l'on connaît aujourd'hui (et qu'il confiera à son fidèle élève A. Masbernard puis à C.P. Giudicelli), il milite pour la création d'une chaire de réanimation à la suite de l'individualisation, au sein des armées, dès les années 1950, d'une spécialité de médecine d'urgence.

A la même époque il fait modifier le contenu et l'enseignement de la chaire d'hygiène et, en précurseur, lui incorpore la dimension ergonomique. Devenu directeur de l'Ecole, il entreprend aussi une totale rénovation pédagogique fondée sur l'enseignement dirigé et participatif, et les exercices sur le terrain. C'est encore sous son impulsion que les services cliniques du Val-de-Grâce vont se spécialiser, sous l'autorité de jeunes chefs d'école au choix desquels il n'est pas étranger et auxquels il va accorder une totale liberté d'action. Ainsi les relations avec le monde universitaire vont se renouer après s'être un moment estompées et l'on verra se réunir, au Val-de-Grâce, nombre de grandes sociétés savantes. Présidant la Société de médecine militaire il n'hésite pas, dès 1966, à décentraliser les séances et à les coordonner avec celles des grands CHU de province pour y faire connaître les travaux des médecins des armées et, de la même manière, à porter ses messages outre-mer, en Afrique du Nord et dans tout le Moyen-Orient. Il crée même une agrégation du Val-de-Grâce, à titre étranger : seize de nos collègues ont ainsi, en vingt ans, acquis ce titre. Enfin et pour clore cette liste non exhaustive, il participe activement à la rédaction du nouveau statut des médecins des armées (1975).

Au long de toutes ces étapes d'une carrière si impressionnante, on mesure aisément aujourd'hui à quel point le Médecin général Baylon fut préoccupé de faire rayonner le Val-de-Grâce et former les jeunes élites qui en représentent la pierre angulaire. Comment ne pas affirmer que ces deux objectifs essentiels de sa vie professionnelle ont été largement atteints ?

Permettez-moi maintenant d'ajouter quelques mots sur les exceptionnelles qualités relationnelles et humaines de l'homme dont nous évoquons la mémoire aujourd'hui. D'autres que moi seraient sans doute mieux fondés à les rappeler pour l'avoir peut être plus longtemps côtoyé. Il me semble cependant que nul ne pourrait échapper à l'évocation de trois vertus unanimement appréciées : la sagesse, la courtoisie, l'autorité.

Faculté de gestion de la vie quotidienne (la sagesse qui s'apprend), ou don naturel de l'intelligence (mérite inné qui doit moins à la connaissance), Henri Baylon possédait à la fois ces deux formes de la sagesse. Elle fut chez lui prudence et savoir, courage moral et fruit de l'expérience, génie visionnaire et doctrine. Il était doué pour les affaires publiques, ne manifestant ni dogmatisme, ni scepticisme, sachant ménager le temps, voire le retarder pour réviser un jugement ou simplement exprimer celui-ci plus clairement. Pour avoir affronté les turpitudes de la guerre et de la captivité, puis celles de notre métier, il avait de plus acquis une exceptionnelle connaissance des hommes qui, associée à des dispositions naturelles, firent de lui un guide toujours inspiré, toujours consulté. Il fut ainsi un phare dont les vues prospectives soulevaient l'admiration.

Une telle sagesse, fut d'autant plus génératrice d'heureux développements qu'elle s'est toujours exprimée sous le couvert d'une non moins exceptionnelle affabilité. Certes le professeur Henri Baylon ne se livrait pas facilement : il y

avait même une part de secret, voire d'insaisissable dans ses relations. Et pourtant il se prêtait toujours au dialogue même s'il se protégeait par une politesse qui tient l'interlocuteur à distance. Cette courtoisie, jamais départie, que nous avons tous tant appréciée, outre son caractère naturel, comportait l'adhésion à certaines valeurs des formes dans l'expression des sentiments, des conduites et de la rigueur des actes. Elle s'apparentait de plus à une politesse fondée sur la bonté et la générosité. Elle fut discrète et modeste, sans nul doute, mais elle était témoignage de loyauté, de fidélité, sans compromission. Enfin, elle s'est toujours alliée à un grand contrôle de soi, à la domination de tout mouvement passionnel ou de langage, à une propension naturelle au dévouement. Pour tout dire cette courtoisie était une courtoisie du cœur.

Enfin, Henri Baylon possédait un sens de l'autorité qui lui permettait d'obtenir, sans recours à la moindre contrainte, le comportement participatif de ses amis, proches ou subordonnés. Il ne s'agissait pas là d'une autorité réglementaire liée au pouvoir institutionnel, mais bien d'une sorte d'ascendant qu'il exerçait en vertu de qualités s'imposant à l'évidence : je veux ici évoquer, outre la compétence technique, une popularité due à la faculté de se faire comprendre, un don certain pour libérer ses collaborateurs de leurs frustrations et — comme l'écrit un sociologue — « prêter verbe, assurance ou puissance aux plus désarmés », enfin le prestige, c'est-à-dire cette supériorité naturelle qui s'impose aux autres et commande le respect.

Même si j'ai servi sous les ordres du Médecin général Baylon depuis 1968, et si je me réjouis d'avoir appartenu à sa section au sein de notre compagnie, je n'ai pas été directement son élève. Mais à plus de dix années de distance, j'ai eu la chance de lui succéder à la tête de l'Ecole du Val-de-Grâce, en 1985. Alors que j'allais le saluer à cette occasion il me tint les propos suivants, que je ne puis m'empêcher de vous relater tant ils paraissent dépeindre l'homme : « Vous venez d'accéder à l'un des plus beaux postes de notre service, me dit-il. Mais vous le constaterez, vous n'aurez personne à commander car cela reviendrait à contraindre, obliger, dicter voire sommer. Je crois qu'au contraire, il va vous falloir conduire, organiser, régir sans régenter, inspirer et surtout exercer une calme influence ».

La disponibilité, la courtoisie et la sagesse que j'évoquais à l'instant expliquent sans nul doute que dans son milieu familial, le Professeur Baylon se soit adonné par dessus tout à l'art d'être grand-père. Une grande partie de ses loisirs était ainsi consacrée à ses petits-enfants, dont il fut le parfait complice et qu'il écoutait avec une infinie patience, s'intéressant à leurs études, à leurs jeux, ... à leurs secrets. Vous ne vous étonnerez sans doute pas si j'ajoute qu'il trouvait son épanouissement dans les plaisirs les plus simples. Il cultivait ainsi son jardin — au sens propre du terme — avec délectation et parcourait inlassablement les collines de Provence où Madame Baylon, qu'il avait épousée en 1938, l'avait facilement entraîné en le persuadant de restaurer une vieille maison familiale. Mais il aimait aussi passionnément les livres parce qu'ils procurent à l'homme

sa plénitude, ouvrages anciens et études biographiques en particulier. Il n'appréciait en effet que médiocrement la littérature contemporaine, considérant que le grand inconvénient des livres nouveaux est qu'ils empêchent de lire ou de relire les anciens. Il s'obligeait ainsi à ce plaisir sans cesse renouvelé qui fut sa méthode de ressourcement permanent.

Mesdames, Messieurs, « le temps est un bavard même quand on ne l'interroge pas » a dit Euripide. Il ne saurait ainsi effacer la trace des hommes de qualité. Je voudrais, pour terminer, assurer Madame Baylon, sa fille Claude et son mari, notre collègue le professeur Philippe Coumel, sa fille Anne et son mari et tous ses petits-enfants, qu'il en sera naturellement ainsi pour le Médecin général Baylon, au sein de notre compagnie.

*Bull. Acad. Natle. Méd.*, 1996, *180*, n° 2, 291-303, séance du 6 février 1996

# Encéphalopathie spongiforme bovine et maladie de Creutzfeldt-Jakob. Actualités

Jeanne BRUGÈRE-PICOUX *

Au Royaume-Uni, alors que l'on observe une diminution remarquable du nombre des cas d'encéphalopathie spongiforme bovine (ESB) confirmés par mois [1, 2], une psychose est apparue de nouveau à la fin de l'année 1995 à propos du risque de transmission de cette maladie à l'homme. Cette psychose est la conséquence d'une part de l'annonce de cas de maladie de Creutzfeldt-Jakob (MCJ) chez quatre fermiers anglais [3, 4] et chez deux adolescents [5, 6] et, d'autre part, des publications de Dealler [7, 8] et des déclarations à la presse de spécialistes anglais soulignant la possibilité d'un lien entre la MCJ et la consommation de produits d'origine bovine, au Royaume-Uni.

Les incertitudes rencontrées pour évaluer un risque de contamination de l'Homme à partir d'un agent transmissible non conventionnel (ATNC) bovin (souvent dénommé « prion » en raison de l'hypothèse la plus communément admise), permettent d'argumenter pour une telle position alarmiste (où seuls les aspects négatifs seront présentés).

C'est pourquoi, pour évaluer si les mesures préventives prises officiellement sont suffisantes dans l'hypothèse (qui reste à démontrer) d'un tel risque, il importe de tenir compte de toutes les données scientifiques actuellement disponibles.

## Incidence actuelle de l'ESB

En ce qui concerne l'incidence de l'ESB [1], on a enregistré depuis 1986 (date de la première identification de la maladie) 156 921 cas en totalité dans 33 170 troupeaux en Grande-Bretagne (au 12 janvier 1996) et 1 653 cas en Irlande du Nord. Les autres pays où la maladie est signalée chez des bovins non importés du Royaume-Uni, sont la République d'Irlande (113 cas au 28 décembre 1995), la Suisse (183 cas au 30 novembre 1995), la France (13 cas au 20 janvier 1996) et le Portugal (29 cas au 28 décembre 1995).

---

* Pathologie médicale du bétail et des animaux de basse-cour, École nationale vétérinaire d'Alfort - 94704 Maisons-Alfort cedex, France.
Tél. 33 [1] 43 96 71 22. Télécopie : 33 [1] 43 96 09 67.

*Tirés-à-part :* Professeur Jeanne Brugère-Picoux, à l'adresse ci-dessus.
*Article reçu le 29 janvier 1996, accepté le 29 janvier 1996.*

Ces chiffres ne correspondent qu'aux cas cliniquement décelés (en fin d'évolution de l'ESB) et déclarés aux autorités sanitaires et non aux cas d'ESB en incubation. Ainsi, Dealler et Kent [9] estiment que plus de 675 000 bovins auraient été atteints entre 1981 et 1988 au Royaume-Uni, la majorité de ces animaux ayant été abattue pour la consommation humaine. Il faut rappeler que cette période de 1981 à 1988 correspond à deux phases :

— une première phase de contamination silencieuse (1981-1985) ;

— une seconde phase commençant avec l'identification de la maladie en 1986 jusqu'à la mise en place, en 1988, des premières mesures destinées à limiter l'enzootie (interdiction des farines de viande dans l'alimentation des bovins, déclaration obligatoire, abattage et incinération des bovins suspects d'ESB).

Dealler et Kent [7] estiment que le total des bovins en incubation d'ESB abattus atteindra 1 800 000 en 2001. Il est même encore possible que des animaux présentant des signes très précoces de l'ESB soient encore actuellement envoyés à l'abattoir [10] en raison des problèmes engendrés par la déclaration de la maladie, ceci pour une faible indemnisation finale.

Par ailleurs, avec l'arrêt, depuis juillet 1988, de l'apport de farines de viande et d'os dans l'alimentation des ruminants anglais (les farines étant à l'origine de l'enzootie de l'ESB, suite à une modification de leur mode de préparation en 1980), on pouvait espérer la disparition progressive des cas d'ESB chez les bovins. Ce ne fut pas le cas pour les 24 329 bovins nés après cette date et recensés en novembre 1995 [2], dont 10 908 en 1988, 9 938 en 1989, 2 774 en 1990, 684 en 1991, 24 en 1992 et 1 en 1993. L'apparition de ces cas « nés après l'interdiction » peut être expliquée :

— par les stocks de farines de viande restant dans les fermes au moment de l'interdiction et néanmoins utilisés par les éleveurs ;

— par une éventuelle transmission verticale du prion bovin de la vache au veau. Actuellement la possibilité d'une transmission verticale est loin d'être démontrée [11],

— par une transmission horizontale (contamination de l'environnement ? lait ?...). En ce qui concerne l'hypothèse d'une transmission par le lait, les essais effectués chez la souris contaminée *per os* avec du lait de vache atteinte d'ESB se sont révélés négatifs [12]. Cependant, dès 1988, le lait des animaux suspects a été interdit à la vente pour la consommation humaine. La seule publication permettant de penser à une transmission horizontale (avec peut-être un effet cumulatif ?) correspond à une étude de Hourrigan et coll. [13] observant une corrélation positive entre le risque de transmission de la tremblante et la durée de cohabitation de la brebis avec son agneau.

Il faut aussi remarquer que la « barrière d'espèce », que l'on connaît avec les souches de l'agent de la tremblante du mouton, ne semble pas aussi efficace

avec l'agent de l'ESB dans la mesure où Bruce et coll. [14] ont montré que ce prion bovin avait été transmis dans les conditions naturelles, en Angleterre, au chat domestique ou à certains ruminants sauvages en captivité comme le Koudou et le Nyala. Depuis 1990, 69 chats anglais ont présenté une encéphalopathie spongiforme féline (ESF) alors qu'on ne connaît qu'un cas d'ESF norvégien et un cas d'ESF irlandais [1].

Ceci relance la question, restée sans réponse satisfaisante, de l'origine ovine ou bovine de la contamination par les farines de viande anglaises [15, 16]. S'il existait vraisemblablement des cas très sporadiques d'ESB avant 1985 en Europe, on peut noter que les Anglais n'ont pas remarqué une augmentation importante du nombre de cas de tremblante dans leur pays, depuis le début de l'épizootie bovine. Les essais de transmission de la tremblante aux bovins sembleraient montrer qu'il n'y a pas eu de franchissement d'espèce du mouton au bovin dans le cas de l'ESB [17, 18].

## ESB ET MCJ

L'apparition de cas iatrogènes de MCJ chez des enfants contaminés par une hormone de croissance naturelle, associée à l'apparition de l'ESB sous une forme enzootique au Royaume-Uni, a justifié la création pour deux ans, au sein de la Communauté Européenne, d'un réseau de surveillance épidémiologique des encéphalopathies spongiformes humaines en juillet 1993, intégrant le réseau français créé en 1992 [19].

Les quatre cas de MCJ observés chez les fermiers anglais [3, 4], associés aux deux cas observés chez des jeunes [5, 6] ne permettent pas aux spécialistes de répondre si un lien peut exister de façon certaine entre ces cas et l'ESB [4, 20, 21, 22, 23, 24, 25]. En raison de la rareté de la MCJ (en particulier chez les adolescents), il est difficile de conclure, par une analyse statistique, à une telle relation [26].

### *Arguments en faveur d'un risque éventuel*

— les cas de MCJ observés chez les fermiers et les deux adolescents britanniques ne peuvent représenter un événement fortuit et ce signe d'alerte épidémiologique nécessite de rechercher les causes possibles de la contamination, à la fois à la ferme et dans l'alimentation [22] ;

— les quatre fermiers ont eu au moins un cas d'ESB dans leurs troupeaux. Ils auraient pu être infectés par contact avec les bovins ou par inhalation de farines de viande et d'os contaminées [21, 27], l'atteinte de l'encéphale par la voie des nerfs olfactifs s'accompagnant d'une durée d'incubation inférieure à celle observée lors de contamination par la voie orale.

*Arguments ne permettant pas de conclure à une relation entre l'ESB et la MCJ :*

— la longueur de la période d'incubation de la MCJ chez l'homme peut être très variable (elle peut être inférieure à 4 ans dans le cas du Kuru alors que l'on estime qu'elle est le plus souvent d'au moins une ou deux décennies) [23] ;

— 15 % des cas de MCJ sont uniquement d'origine génétique et, dans les autres cas, aucun contaminant n'a été identifié (en dehors des contaminations d'origine iatrogène ou anthropophage) ;

— si le contact avec les bovins ou les aliments destinés aux bovins peut permettre une contamination, les producteurs d'aliments du bétail et le personnel des abattoirs représenteraient un groupe à risque élevé (ce qui n'a pas été démontré) [23] ;

— si l'on compare le nombre de bovins ou de moutons par habitant dans certains pays (ainsi que l'incidence de l'ESB ou de la tremblante ovine), il n'existe pas une augmentation significative du nombre de cas de MCJ dans les pays où les ruminants sont atteints de façon endémique [28] ;

— les symptômes observés dans ces six cas de MCJ sont caractéristiques d'une forme sporadique de la maladie ; on n'observe pas les symptômes de type cérébelleux caractérisant une contamination périphérique (décrite dans le Kuru et dans les MCJ iatrogènes dues à l'hormone de croissance) [21] ;

— l'augmentation annuelle de 30 cas de MCJ pendant les années 80 à 54 cas en 1994 au Royaume-Uni est due, vraisemblablement, à une amélioration des méthodes de diagnostic [24] ;

— les résultats préliminaires obtenus par Collinge et coll. [29] sur des souris transgéniques porteuses de la protéine PrP humaine, ont permis de noter une « résistance » pendant 280 jours à l'agent ESB. Cependant, ces résultats sont encore prématurés. On ne pourra conclure que si le temps de survie de ces souris dépasse 600 à 700 jours, soit la durée d'incubation observée chez les souris non transgéniques sensibles à l'agent de l'ESB [30]. Par ailleurs, il faut rappeler l'importance du génome de l'hôte dans la réceptivité aux ATNC avant de conclure, définitivement, à l'existence d'une barrière d'espèce solide entre l'agent de l'ESB et l'Homme avec une étude portant sur un seul gène PrP humain.

*Moyens permettant de vérifier une éventuelle contamination de l'homme par l'agent bovin*

— une réponse pourrait être obtenue par l'étude des souches de ces cas de MCJ [20]. En effet, l'agent de l'ESB a pu être identifié lors d'un premier passage sur une autre espèce comme le chat ou d'autres espèces de ruminants [14] ;

— le maintien du réseau européen de surveillance épidémiologique de la MCJ pourra permettre, dans les années à venir, de vérifier s'il existe une asso-

ciation entre cette maladie et l'ESB (avec un effet cumulatif ou une plus forte réceptivité chez les jeunes ?), le risque d'une contamination éventuelle ayant surtout existé avant la mise en place des mesures de prévention décidées, à partir de 1988, au Royaume-Uni, puis en Europe.

## Mesures de prévention

Pour estimer le risque lié à la consommation de tissus infectants, il faut rappeler que l'agent se réplique dans les tissus lymphoïdes pendant la phase d'incubation et que les symptômes ne correspondent qu'à un stade tardif de l'atteinte ultérieure du système nerveux central.

En l'absence de test de dépistage utilisable à l'abattoir chez les bovins contaminés asymptomatiques, les mesures préventives prises au Royaume-Uni semblent, en l'état actuel de nos connaissances, suffisantes pour garantir la protection du consommateur (interdiction des abats potentiellement dangereux), sur tout si l'on tient compte de la diminution importante du nombre des cas d'ESB.

Bien que la protéine PrP, considérée comme le précurseur de l'ATNC selon la théorie du prion, ait pu être mise en évidence dans de nombreux tissus chez le Hamster [31] ou au niveau de la plaque neuromusculaire chez l'Homme [32], les expériences de transmission ont permis de retenir que seuls les abats riches en tissu lymphoïde ou en tissu nerveux pouvaient représenter un risque pour l'Homme.

Sur la base de travaux consacrés à l'étude de la progression de l'agent de la tremblante du mouton, les spécialistes du ministère de l'Agriculture au Royaume-Uni *(Ministery of Agriculture, Fisheries and Food* ou *MAFF)* ont considéré, initialement, que les tissus potentiellement infectants ne représentaient un risque qu'à partir de l'âge de 6 mois, chez les bovins.

Pour cette raison, dès novembre 1989, une liste d'abats « spécifiés », interdits à la consommation humaine au Royaume-Uni, a été établie : cerveau, moelle épinière, thymus, amygdales, intestin, rate (pour les bovins âgés de plus de 6 mois). Ces interdictions ont concerné plus tard, en 1990, les exportations vers la Communauté européenne et leur utilisation en alimentation animale puis, en 1991, leur incorporation dans les engrais.

Depuis 1990, nous avons eu souvent l'occasion de souligner que ces interdictions auraient dû concerner, également, les tissus lymphoïdes des animaux âgés de moins de 6 mois (en particulier le thymus de veau), notamment pour les pays importateurs comme la France, et qu'il ne fallait pas tenir compte de l'absence de mesures prises au Royaume-Uni, pays où la consommation de veau est très réduite [33].

Jusqu'en 1994, les spécialistes du *MAFF* ont considéré que les mesures prises étaient suffisantes pour protéger le consommateur, du fait que l'agent de

l'ESB n'est retrouvé que dans le système nerveux central des bovins atteints dans les conditions naturelles.

En 1994, les expériences de Wells et coll. [34] démontrant que l'on pouvait retrouver l'agent de l'ESB dans l'iléon de veaux inoculés par la voie orale, ont conduit les autorités britanniques à « prendre la précaution » d'interdire le thymus et l'intestin des veaux âgés de moins de 6 mois, en juillet 1994 [35].

L'extension de l'interdiction des abats aux jeunes veaux n'a concerné que les animaux abattus au Royaume-Uni et non les veaux exportés vers l'Europe continentale. Paradoxalement, un arrêté ministériel du 1er juin 1995 [36] autorise l'importation, à partir du Royaume-Uni, de ces abats sur notre territoire.

En revanche, on peut remarquer que les produits d'origine animale de toutes espèces destinés aux supports de culture doivent être homologués, en France, pour éviter une contamination de l'environnement par l'agent de l'ESB [37]. Par comparaison, le Royaume-Uni s'est limité, depuis 1991, à interdire l'incorporation des abats bovins spécifiés dans les engrais. Ainsi le paradoxe actuel de la réglementation française est qu'elle est plus prudente vis-à-vis des engrais que vis-à-vis des denrées alimentaires !

Enfin, il faut souligner que les inspections vétérinaires faites au Royaume-Uni ont noté que les consignes sanitaires destinées à éviter de laisser en contact les tissus potentiellement infectants avec les parties comestibles de la carcasse n'étaient pas toujours respectées dans les abattoirs. Il en est résulté de nouvelles mesures concernant les abats « spécifiés » soit [2] :

— depuis le 1er avril 1995, leur coloration avec un produit bleu indélébile ;

— depuis le 15 août 1995, des recommandations pour le prélèvement des yeux et des encéphales, pour l'enlèvement de la moelle épinière dans les viandes séparées mécaniquement ainsi que pour leur élimination après incinération. La moelle épinière des veaux âgés de moins de 6 mois est aussi rajoutée à la liste des abats spécifiés interdits [38].

## Conclusion

La situation actuelle montre qu'il faut rester très vigilant sur l'évolution actuelle de l'ESB et de la MCJ chez les sujets à risques (bouchers, fermiers...) et chez les jeunes. Les incertitudes sur ces maladies montrent que la situation doit être sans cesse réexaminée.

C'est pourquoi il est justifié :

— d'appliquer, en France, les mêmes interdictions qu'au Royaume-Uni sur les abats des veaux importés de ce pays (ne pas autoriser pour la consommation humaine l'intestin, le thymus et la moelle épinière) ;

— de maintenir, impérativement, le réseau de surveillance épidémiologique de la MCJ en Europe.

*Bull. Acad. Natle. Méd.*, 1996, *180*, n° 2, 291-303, séance du 6 février 1996

RÉSUMÉ

L'observation, au Royaume-Uni, de cas de maladie de Creutzfeldt-Jakob (MCJ) chez deux adolescents et quatre fermiers repose la question d'un lien éventuel entre la MCJ et l'encéphalopathie spongiforme bovine (ESB). L'enzootie d'ESB est la conséquence de l'incorporation de farines de viande contaminées dans l'alimentation des bovins en 1981/1982. L'interdiction de ces protéines a permis de prévenir, à partir de 1988, la persistance de ce type de contamination. Néanmoins, l'apparition de cas d'ESB chez des animaux nés après cette interdiction montre que du matériel infectant est encore présent dans les aliments destinés aux bovins (et qu'il y a peut-être une transmission maternelle ?).

Des mesures ont été prises au Royaume-Uni pour protéger les santés publique et animale. Il s'agit en particulier de l'interdiction, en 1989, des « abats spécifiés bovins » (cette interdiction étant étendue en 1994 au thymus et à l'intestin des veaux abattus pour la consommation humaine). Ces mesures permettent de minimiser le risque d'une contamination par l'agent de l'ESB.

Bien que, probablement, les risques liés à l'ESB soient limités au Royaume-Uni, il semble justifié d'appliquer les mêmes interdictions sur les veaux importés de ce pays.

Par ailleurs, il faut maintenir, impérativement, le réseau de surveillance épidémiologique de la MCJ en Europe.

MOTS-CLÉS : CREUTZFELDT-JAKOB, MALADIE. ENCÉPHALOPATHIE SPONGIFORME BOVINE. CONTAMINATION ALIMENTAIRE. VIANDE. BOVIN. SURVEILLANCE ENVIRONNEMENT.

SUMMARY : *Bovine spongiform encephalopathy and Creutzfeldt-Jakob disease. Current news*

The occurence of Creutzfeldt-Jakob disease (CJD) in two teenagers and four dairy farmers in the United-Kingdom has focused attention on the possibility of a causai link between bovine spongiform encephalopathy (BSE) and Creutzfeldt-Jakob disease.

The BSE epidemic was initiated by the inclusion in the cattle feed of ruminant-derived protein in 1981/1982. A feed ban of the ruminant-derived protein in 1988 prevented further transmission of the infective agent to cattle by this route. However cases in animals born some years after the feeban suggest that there has been some continued leakage of BSE infected material into animal feed (and perhaps maternal transmission ?).

To protect public and animal health, measures have been taken in the United Kingdom, especially prohibition of specified bovine offals in 1989 (extending this ban to thymus and intestine of calves slaughtered for human

consumption in 1994). These measures are considered as minimizing the risk of BSE infection

Although the BSE linked risk factors are probably unique to the United Kingdom, it seems necessary to have the same regulations for the calves imported from this country. More, it is crucial that the ongoing surveillance programme of CJD in Europe is sustained.

KEY-WORDS (Index Medicus) : CREUTZFELDT-JAKOB SYNDROME. ENCEPHALOPATHY, BOVINE SPONGIFORM. FOOD CONTAMINATION. MEAT. CATTLE. ENVIRONMENTAL MONITORING.

## BIBLIOGRAPHIE

[1] BRADLEY R. — Communication personnelle (1996).

[2] Bovine spongiform encephalopathy in Great Britain. A progress report of Ministery of Agriculture, Fisheries and Food (MAFF), novembre 1995.

[3] SMITH P.E.M., ZEIDLER M., IRONSIDE J.W., ESTIBEIRO P., MOSS T.H. — Creutzfeldt-Jakob disease in a dairy farmer. *Lancet*, 1995, *346*, 898.

[4] HOFMAN A., WIENTJENS D.P.W.M.V. — Epidemiological evidence concerning a possible causal link. *Brit. Med. J.*, 1995, *311*, 1418-1419.

[5] BRITTON T.C., AL-SARRAJ S., CAMPBELL T., COLLINGE J. — Sporadic Creutzfeldt-Jakob disease in a 16-year-old in the UK. *Lancet*, 1995, *346*, 1155.

[6] BATEMAN D., HILTON D., LOVE S., ZEIDLER M., BECK J., COLLINGE J. — Sporadic Creutzfeldt-Jakob disease in a 18-year-old in the UK. *Lancet*, 1995, *346*, 1155-1156.

[7] DEALLER S. F., KENT J.T. — BSE : an update on the statistical evidence. *British Food J.*, 1995, *97*, 3-18.

[8] PATTERSON W.J., DEALLER S. — Bovine spongiform encephalopathy and the public health. *J. Public Health Medicine*, 1995, *17*, 261-268.

[9] DEALLER S.F. — Bovine spongiform encephalopathy : the potentiel effect of the epidemic on the human population. *Brit. Food J.*, 1993, *8*, 22-34.

[10] SHORTE N., OTTE J. — Diagnosis of BSE. *Vet. Rec.*, 1995, *136*, 523.

[11] RIDLEY R.M., BAKER H.F. — The myth of maternal transmission of spongiform encephalopathy. *Brit. Med. J.*, 1995, *311*, 1071-1075.

[12] TAYLOR D.M., FERGUSON C.E., BOSTOCK C.J., DAWSON M. — Absence of disease in mice receiving milk of cows with bovine spongiform encephalopathy. *Vet. Rec.*, 1995, *136*, 592.

[13] HOURRIGAN J.L., KLINGSPORN A., CLARK W.W., DECAMP M. — Epidemiology of scrapie in the United States. *In « Slow transmissible diseases of the nervous system »*, Vol 1, Ed. PRUSINER S.B., HADLOW W.J. New York, Academic Press, 1979, pp 331-346.

[14] BRUCE M., CHREE A., MCCONNELL I., FOSTER J., PEARSON G., FRASER H. — Transmission of bovine spongiform encephalopathy and scrapie to mice : strain variation and the species barrier. *Phil. Trans. R. Soc. Lond* B, 1994, *343*, 405-411.

[15] EDDY R.G. — Origin of BSE. *Vet. Rec.*, 1995, *137*, 648.

[16] DAVIES G. — Origin of BSE. *Vet. Rec.*, 1996, *138*, 23.

[17] Cutlip R.C., Miller J.M., Race R.E., Jenny A.L., Katz J.B., Lehmkuhl H.D., Debey B.M., Robinson M.M. — Intracerebral transmission od scrapie to cattle. *J. Inf. Dis.*, 1994, *169*, 814-820.

[18] Clark W.W., Hourrigan J.L., Hadlow W.J. — Encephalopathy in cattle experimentally infected with the scrapie agent. *Am. J. Vet. Res.*, 1995, *56*, 606-612.

[19] Brandel J.P., Delasnerie-Lauprêtre N., Laplanche J.L., Dormont D., Hauw J.J., Alperovitch A. — Réseau d'études des encéphalopathies spongiformes humaines : premiers résultats. *Rev. Neurol. (Paris)*, 1994, *150*, 684-688.

[20] Almond J.W. — Will bovine spongiform encephalopathy transmit to humans ? *Brit. Med. J.*, 1995, *311*, 1415-1416.

[21] Brown P. — The jury is still out. *Brit. Med. J.*, 1995, *311*, 1416.

[22] Gore S.M. — More than happenstance : Creutzfeldt-Jakob disease in farmers and young adults. *Brit. Med. J.*, 1995, *311*, 1416-1418.

[23] Ridley R.M., Baker H.F. — Who gets Creutzfeldt-Jakob disease ? *Brit. Med. J.*, 1995, *311*, 1419.

[24] Roberts G.W. — Furrowed brow over mad cow. *Brit. Med. J.*, 1995, *311*, 1419-1420.

[25] Tyler K.L. — Risk of human exposure to bovine spongiform encephalopathy. *Brit. Med. J.*, 1995, *311*, 1420-1421.

[26] Delasnerie-Laupretre N., Poser S., Pocchiari M., Wientjens D.P.W. M., Will R. — Creutzfeldt-Jakob disease in Europe. *Lancet*, 1995, *346*, 898.

[27] Shaw I.C. — BSE and farmworkers. *Lancet*, 1995, *346*, 1365.

[28] Will R.G., Ironside J.W., Hornlimann B., Zeidler M. — Creutzfeldt-Jakob disease. *Lancet*, 1996, *347*, 65-66.

[29] Collinge J., Palmer M.S., Sidle K.C. L., Hill A.F., Gowland I., Meads J., Asante E., Bradley R., Doey L.J., Lantos P.L. — Unaltered susceptibility to BSE in transgenic mice expressing human prion protein. *Nature*, 1995, *378*, 779-782.

[30] Hope J. — Mice and beef and brain diseases. *Nature*, 1995, *378*, 761-762.

[31] Bendheim P.E., Brown H.R., Rudelli R.D., Scala L.J., Goller N.L., Wen G.Y., Kascsak R.J., Cashaman N.R., Bolton D.C. — Nearly ubiquitous tissue distribution of the scrapie agent precursor protein. *Neurology*, 1992, *42*, 149-156.

[32] Askanas V., Bilak M., Engel W.K., Leclerc A., Tome F.M.S. — Prion protein is strongly immunolocalized at the postsynaptic domain of human neuromuscular junctions. *Neurosci. Lett.*, 1993, *159*, 111-114.

[33] Brugère-Picoux J., Petit P., Coche B. — L'encéphalopathie spongiforme bovine. Présentation de la vidéo-cassete STIV-ASFORVETLI. *Bull. Acad. Vét. de France*, 1991, *64*, 161-170.

[34] Wells G.A.H., Dawson M., Hawkins S.A.C., Green R.B., Dexter I., Francis M.E., Simmons M.M., Austin A.R., Hourrigan M.W. — Infectivity in the ileum of cattle challenged orally with bovine spongiform encephalopathy. *Vet. Rec.*, 1994, *135*, 40-41.

[35] Government extends ban on specified bovine offals. *Vet. Rec.*, 1994, *135*, 26.

[36] Arrêté du 1er juin établissant des mesures particulières applicables à certains produits d'origine bovine expédiés du Royaume-Uni, *J.O. du 11 juin 1995*, p. 9030.

[37] Arrêté du 27 août 1992 modifiant des arrêtés portant mise en application obligatoire de normes relatives aux matières fertilisantes et aux supports de culture. *J.O.* du 3 septembre 1992, p. 1281.

[38] Further thightening of controls on specified bovine offals. *Vet. Rec., 1995, 37*, 602.

*Bull. Acad. Natle. Méd.*, 1996, *180*, n° 2, 291-303, séance du 6 février 1996

## COMMENTAIRES

M. Maurice GUÉNIOT : Le gouvernement allemand vient d'interdire l'importation, sur son territoire, de bétail d'origine anglaise, par crainte de la contamination de l'encéphalopathie bovine. En conséquence, les éleveurs anglais tentent d'écouler leurs produits en France. Les éleveurs français, gênés par cette concurrence, ont demandé d'urgence, le 2 février, une réunion à Bruxelles du comité de gestion de la viande bovine. Par ailleurs, la conférence annuelle agricole, présidée par le Premier ministre à Paris, examinera, début février, le problème du marché de la viande.

L'actualité de la question est la raison pour laquelle nous avons demandé à M^me^ Brugère-Picoux de faire le point sur nos connaissances de la maladie des vaches folles, et à notre collègue Alain Rérat de présenter un vœu qui sera communiqué aux pouvoirs publics.

Nombre d'incertitudes subsistent sur ce sujet, les vecteurs de l'encéphalopathie bovine sont, en effet, très particuliers, et il n'est pas certain qu'ils présentent une identité complète avec ceux des autres encéphalopathies spongiformes. Il existe, en revanche, une certitude sur ses possibilités de transmission verticale entre la femelle gravite et le fœtus, donc la transmission de la vache au veau.

On discute encore sur la possibilité d'une barrière d'espèce : on a précédemment publié des cas de la maladie chez des animaux de jardins zoologiques, nourris avec les mêmes aliments que les vaches, notamment plusieurs espèces d'antilopes (nyala et koudou), mais en tout état de cause, il s'agit toujours d'ongulés.

Comme l'a souligné M^me^ Brugère-Picoux, l'attention a particulièrement été attirée sur des articles récents, faisant état d'encéphalopathie spongiforme chez les chats domestiques, nourris eux aussi avec les mêmes aliments suspects. Il s'agit là de félins, ce qui élargit beaucoup les soi-disant barrières d'espèce au sein de la classe des mammifères. Le problème de la sensibilité des primates se trouve désormais posé. Il y a toujours des discussions sur l'important facteur génétique, bien connu dans la maladie de Creutzfeldt-Jakob, déjà signalé dans le koudou, mais il y a probablement un parallèle entre la sensibilité génétique préalable et le facteur infectieux intercurrent. Nul n'est actuellement capable d'en mesurer plus précisément les influences respectives. Il existe toujours des discussions sur les durées d'incubation des encéphalopathies spongiformes, (bien qu'elles soient longues, il semble qu'elles puissent l'être beaucoup moins que l'a affirmé Gajdusek à l'époque où il a reçu le Prix Nobel, en 1976). Il avait signalé qu'elle pouvait être relativement courte dans le kuru. On a constaté, récemment, le même phénomène lors des cas iatrogènes de la maladie de Creutzfeldt-Jakob.

A côté de ces nombreuses incertitudes, il existe des éléments d'appréciation sûrs. Il s'agit déjà d'un problème majeur au Royaume-Uni, fin 1995. Plus de cent cinquante mille vaches étaient atteintes dans trente-trois mille fermes, et chaque année des dizaines de milliers de veaux sont exportés en France, Belgique, Hollande.

Il a été démontré que, chez le veau, la densité du prion était considérable dans les organes lymphoïdes comme le thymus, dans l'intestin et la moelle épinière. De ce fait, le gouvernement anglais interdit la consommation de ces organes sur son territoire, mais ceux-ci peuvent toujours être exportés et vendus en France. C'est la raison pour laquelle l'Académie de médecine demande immédiatement, comme mesure minimale, que la législation française s'aligne sur ce point sur la législation anglaise. Les mesures de précaution peuvent être encore beaucoup plus sévères et le gouvernement allemand n'a pas hésité à franchir ce pas. Mais, il existe de grosses difficultés pour trancher à coup sûr.

A l'époque du lendemain de la Première Guerre mondiale, lors de la formidable extension de syphilis, la génération de nos maîtres possédait un instrument très fiable avec la réaction de Bordet-Wassermann. Actuellement, on ne dispose d'aucun équivalent dans le domaine des encéphalopathies spongiformes pour faire un tri entre les sujets sains (quelles que soient les espèces zoologiques), et les sujets déjà contaminés présentant une infection encore latente, et cliniquement non déclarée.

Tans que nous serons dans cette situation, nous pourrons discuter du sujet des mesures très strictes de sécurité comme celles que vient de prendre le gouvernement allemand, mais il n'est pas possible d'avoir une attitude de quasi indifférence, comme celle de la Commission de Bruxelles. C'est la raison pour laquelle l'Académie donne un signal d'alarme au gouvernement et à l'opinion, par le vœu que je mets maintenant en discussion. Je m'engage en outre, de demander à M^me^ Brugère-Picoux et au professeur Rérat, de nous présenter une nouvelle mise au point sur le sujet, dans le courant de la présente année.

## DISCUSSION

M. Jean-Claude GAUTIER : Je m'associe pleinement au vœu proposé par l'Académie mais je pense qu'il serait justifié d'ajouter le cerveau (ou la cervelle) à la liste des produits prohibés. On ne sait pas, de façon certaine, s'il existe ou non une possibilité de contamination humaine à partir de l'encéphalopathie spongiforme subaiguë mais il faut noter, qu'à l'heure actuelle, le nombre des cas de maladie de Creutzfeldt-Jakob semble similaire dans les pays européens continentaux (où il n'y a pas ou très peu de vaches folles) et au Royaume-Uni (où il y a, ou il y a eu de nombreux cas d'encéphalopathie spongiforme bovine).

*Bull. Acad. Natle. Méd.*, 1996, *180*, n° 2, 291-303, séance du 6 février 1996

M. Charles PILET : Comme vous l'avez bien montré, la notion de barrière d'espèce est devenue inexistante dans cette maladie. Il est donc important que des précautions soient prises pour la protection de l'homme. Pour répondre à la préoccupation exprimée par M. Gautier, il y a peut être lieu de viser, dans le vœu, l'ensemble des tissus nerveux et du tissu lymphoïde. On peut ensuite détailler en utilisant les termes de boucherie mais, dans ce cas, sans oublier la « cervelle ».

M. Guy de THÉ : En l'absence de connaissances précises sur les possibilités de transmission interespèce de l'agent de l'encéphalopathie spongiforme bovine, il est impératif d'interdire l'entrée sur le territoire français de toute viande bovine et ovine provenant de régions endémiques pour ce ou ces agents. Au niveau de la consommation, il faut interdire l'utilisation de tissus nerveux et lymphatiques dans l'alimentation humaine. En pratique, pour le public, il faut parler du risque de consommation de « cervelles » d'origine bovine et ovine. Ce vœu doit être exprimé sous une forme de demande, et doit incorporer la nécessité d'une réglementation européenne à visée préventive, afin d'éviter des problèmes sanitaires et relationnels entre états-membres de l'Union Européenne.

M. Luc MONTAGNIER : Vous avez dit que l'inoculation à la souris d'extraits de chats malades permettait de reconnaître l'origine bovine de cet agent. Ceci n'est-il pas contradictoire avec la notion que le prion, qui se réplique dans l'animal infecté, n'est pas celui de l'espèce du donneur, mais bien appartenant à l'espèce de l'animal infecté ? Une autre question me préoccupe. Ne pensez-vous pas que, par voies détournées, les abats de bovins infectés en Angleterre soient incorporés dans l'alimentation en boîte donnée aux chats et chiens dans notre pays ?

M. Georges DAVID : L'extension des mesures de précaution à des tissus fœtaux, nerveux et lymphoïde, ne devrait-elle pas conduire à suspecter également l'utilisation de milieux de culture contenant du sérum fœtal, milieux qui sont utilisés notamment en fécondation *in vitro* humaine ?

M^me^ BRUGÈRE-PICOUX : — à M. Gautier : Il est exact qu'il n'y a pas eu une augmentation significative du nombre de cas de maladie de Creutzfeldt-Jakob au Royaume-Uni par comparaison avec les pays européens continentaux. Cette maladie étant très rare, une analyse statistique est cependant pratiquement impossible.

— à M. Pilet : Les spécialistes anglais n'avaient pas retenu l'encéphale dans les « abats spécifiés » des veaux âgés de moins de 6 mois, dans la mesure où la durée d'incubation de la maladie est d'environ quatre ans. Expérimentalement, il a été montré que le prion peut être retrouvé dans l'encéphale à partir de la seconde moitié de la période d'incubation (soit, par extrapolation, en moyenne 2 ans pour les bovins).

— à M. de Thé : Les mesures prises, au Royaume-Uni, ont tenu compte de la possibilité d'une contamination pour l'Homme et seuls les abats se sont révélés potentiellement infectants. Le tissu musculaire ne représente pas un ris-

que potentiel. La tremblante du mouton existe depuis plus de deux siècles en France (et dans d'autres pays de l'Europe continentale) sans qu'aucune relation n'ait pu être établie entre cette maladie et la MCJ.

— à M. Montagnier : 1) La barrière d'espèce existe bien dans les affections dues au prion. Il faut également noter l'importance de la génétique de l'hôte qui gouverne la durée de la période d'incubation. Les souches de prion d'origine bovine et ovine ont été récemment étudiées par Bruce et coll. avec un test d'inoculation intra-cérébrale à différentes souches de souris présentant des durées d'incubation variables (souches de souris « résistantes » ou « sensibles » à l'agent de l'ESB). Cette étude a confirmé la diversité (déjà connue) des souches de la tremblante du mouton et l'unicité de l'agent de l'ESB (avec les mêmes durées d'incubation chez les souris « sensibles » et « résistantes » pour tous les prélèvements testés. Elle a permis, aussi, de démontrer que l'agent de l'ESB était peu modifié par un premier passage sur une autre espèce, comme le chat dans les conditions naturelles ou les petits ruminants dans les conditions expérimentales. C'est pourquoi les neurologues ont préconisé ces tests d'inoculation à la souris pour vérifier l'origine, bovine ou non, des cas de MCJ observés récemment au Royaume-Uni. 2) Actuellement, au Royaume-Uni, les abats spécifiés bovins, considérés comme potentiellement dangereux, sont dénaturés (colorés en bleu) et incinérés. Il ne peuvent donc pas être incorporés dans les aliments destinés aux animaux de compagnie (chiens, chats).

— à M. David : Depuis l'identification de l'ESB, au Royaume-Uni, l'une des premières mesures fut d'interdire l'emploi de sérum de veau fœtal d'origine britannique.

*Bull. Acad. Natle. Méd.*, 1996, *180*, n° 2, 305-316, séance du 6 février 1996

# L'infection de la souris par le virus de Theiler ; un modèle pour l'étude des maladies démyélinisantes du système nerveux central

Michel BRAHIC *

## Introduction

Les modèles animaux sont indispensables pour l'étude de maladies humaines d'étiologies complexes. Ils procurent les informations nécessaires pour formuler, puis tester, de nouvelles hypothèses concernant la pathogénie de ces maladies difficiles à étudier. Dans cette communication, nous décrirons un modèle d'infection virale du système nerveux central (SNC) dont l'étude a considérablement enrichi nos connaissances sur les interactions entre virus, gènes de sensibilité et réactions immunitaires qui peuvent aboutir à la persistance de l'infection.

Le virus de Theiler fut isolé pour la première fois en 1933 du cerveau d'une souris présentant une paralysie des pattes postérieures [1]. Dès cette époque, Max Theiler démontra que les propriétés de ce virus étaient voisines de celles du poliovirus, mais qu'il persistait dans le SNC pendant toute la vie de l'animal malgré la présence d'anticorps spécifiques [2]. Dans les années cinquante, d'autres auteurs ont remarqué que cette infection persistante s'accompagnait de lésions inflammatoires de la substance blanche avec démyélinisation primaire [3]. Ces lésions ressemblent de très près aux plaques actives retrouvées chez les malades atteints de sclérose en plaques [4].

Dans la nature, ce virus se transmet par voie orale. Il cause une infection inapparente du tube digestif et, chez certains animaux, une maladie neurologique. Cette maladie est biphasique [5]. Dans un premier temps, le virus se multiplie dans les neurones du cerveau puis de la moelle épinière. Au bout d'une semaine ou deux le virus disparaît des neurones et la maladie entre dans sa deuxième phase. Au cours de celle-ci, le virus est retrouvé dans les oligodendrocytes et les cellules microgliales-macrophagiques [6]. Ces cellules infectées sont entourées d'infiltrats de lymphocytes T, B et de macrophages, au sein desquels se trouvent les axones démyélinisés (Fig. 1).

* Institut Pasteur, Unité des Virus Lents, URA 1157 CNRS, 28, rue du Dr. Roux, 75724 Paris cedex 15. Tél : [1] 45.68.87.70, Fax : [1] 40.61.31.67.

*Tirés-à-part* : Pr. Michel Brahic, à l'adresse ci-dessus.
*Article reçu le 5 mai 1995, accepté le 26 juin 1995.*

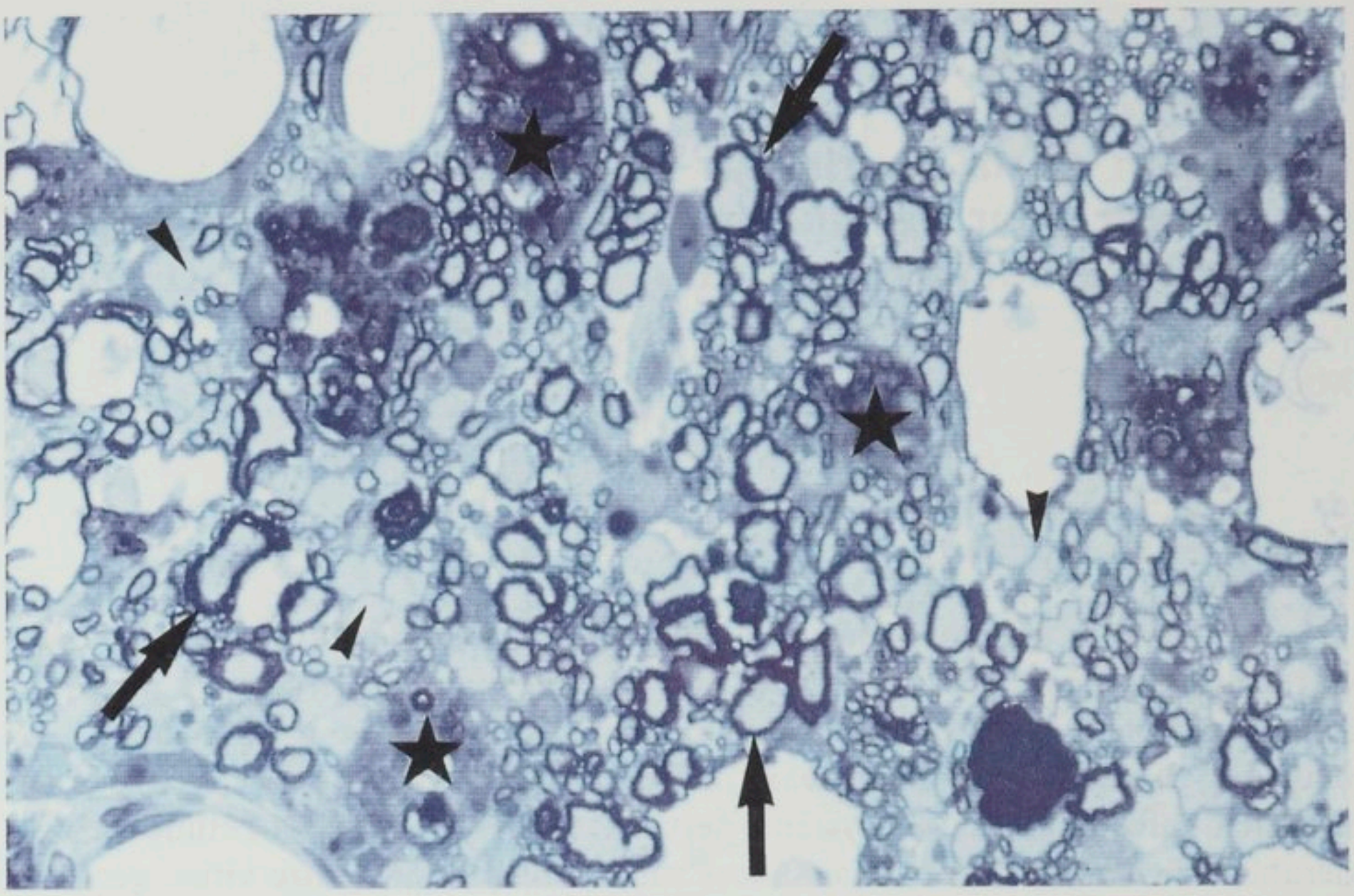


FIG. 1. — Moelle épinière d'une souris SJL/J sacrifiée 45 jours après inoculation avec la souche DA du virus de Theiler. Coupe transversale semi-fine (1 µm), coloration au bleu de toluidine. La figure illustre une lésion inflammatoire avec démyélinisation primaire. On remarque la présence de macrophages contenant des débris de myéline (étoiles), des axones entourés d'une gaine de myéline normale (flèches), des axones démyélinisés (pointes de flèches).

La majorité des souches de virus de Theiler, dont la souche DA, causent la maladie décrite ci-dessus. Une souche de phénotype très différent a été isolée. Cette souche, nommée GDVII, cause une encéphalomyélite aiguë, mortelle dans la plupart des cas. Elle est incapable de persister chez les rares survivants. Elle ne diffère cependant du virus DA que par un nombre limité de mutations. Par ailleurs, toutes les lignées de souris consanguines ne sont pas également sensibles à l'infection persistante et à la maladie démyélinisante. Certaines sont extrêmement sensibles, comme les souris SJL/J et FVB, d'autres sont résistantes, comme la souris C57BL/6, d'autres enfin sont de sensibilité intermédiaire. L'ensemble de ces variations procure des outils pour identifier les gènes viraux responsables de la persistance de l'infection et les gènes de l'hôte responsables de la sensibilité à cette persistance. L'identification de cet ensemble de gènes, et de leurs fonctions, constitue une approche rationnelle de l'étude de la pathogénie de cette maladie complexe, approche qui est rendue possible par les méthodes modernes de la génétique moléculaire.

*Bull. Acad. Natle. Méd.*, 1996, *180*, n° 2, 305-316, séance du 6 février 1996



Comme tous les picornavirus, le virus de Theiler est un petit virus à capside nue, de symétrie icosahèdrique et dont le génome est constitué d'une molécule d'ARN de polarité positive longue de 8 100 nucléotides. Ce génome contient douze gènes dont quatre codent pour les protéines de capside VP1, VP2, VP3 et VP4. Dans le but d'identifier les déterminants responsables de la persistance du virus, nous avons construit des cADN infectieux pour les génomes des virus DA et GDVII [7, 8]. En recombinant ces cADN entre eux, nous avons montré que les phénotypes des virus DA et GDVII pouvaient être échangés en échangeant les gènes codant pour leurs capsides [9, 10] (Fig. 2). A l'intérieur de la capside, les protéines VP3 et VP1 jouent un rôle majeur dans la persistance et la démyélinisation, comme le montre la comparaison des virus R4 et R6 (Fig. 2).

La structure de la capside a été résolue à l'échelle atomique par le groupe de J. Hogle [11]. Les acides aminés, qui diffèrent entre les virus DA et GDVII, sont situés à la surface de la capside, dans les boucles qui relient les feuillets bêta des protéines les uns aux autres. En échangeant ces boucles entre elles et en étudiant un certain nombre de mutations situées dans ces boucles, nous avons défini des régions de la capside qui jouent un rôle essentiel dans la persistance du virus. Ces régions, formées par deux boucles de VP1 et une double boucle de VP2, constituent les pointes de plateaux en forme d'étoiles à cinq branches centrés autour des axes de symétrie d'ordre cinq (Fig. 3) [12]. Elles dominent des dépressions qui sont vraisemblablement les sites d'attachement au récepteur viral.

La capside joue plusieurs rôles dans l'établissement de l'infection persistante. Pour que l'hôte survive, il faut que le virus n'inflige que des lésions limitées au SNC. L'étude du phénotype des virus recombinants (Fig. 2), montre que la capside contrôle l'efficacité de la réplication virale dans le SNC. Moins la capside contient de polypeptides provenant du virus GDVII, moins le virus se multiplie efficacement. La capside joue aussi un rôle en déterminant la migration du virus à l'intérieur du SNC, en particulier des neurones de la substance grise aux cellules gliales de la substance blanche. Cet effet est illustré par le cas du virus recombinant R5 (Fig. 2). Alors que ce virus ne persiste pas dans le SNC des souris immunocompétentes, il persiste chez les souris athymiques BALB/C nu+/+. Cependant, chez ces dernières, le virus est retrouvé dans les neurones cérébraux, dans une certaine mesure dans ceux de la moelle épinière, mais jamais dans les cellules gliales de la substance blanche. De plus, les souris ne présentent pas de lésions démyélinisantes, même après que le virus ait persisté pendant plus d'un mois dans les neurones [13]. Cette étude montre donc le rôle de la capside dans le passage du virus des neurones vers les cellules gliales de la substance blanche. Elle montre aussi que l'incapacité à persister de certains des virus recombinants n'est pas due à un défaut de réplication mais au fait qu'ils sont efficacement éliminés par les réponses immunes thymo-dépendantes.

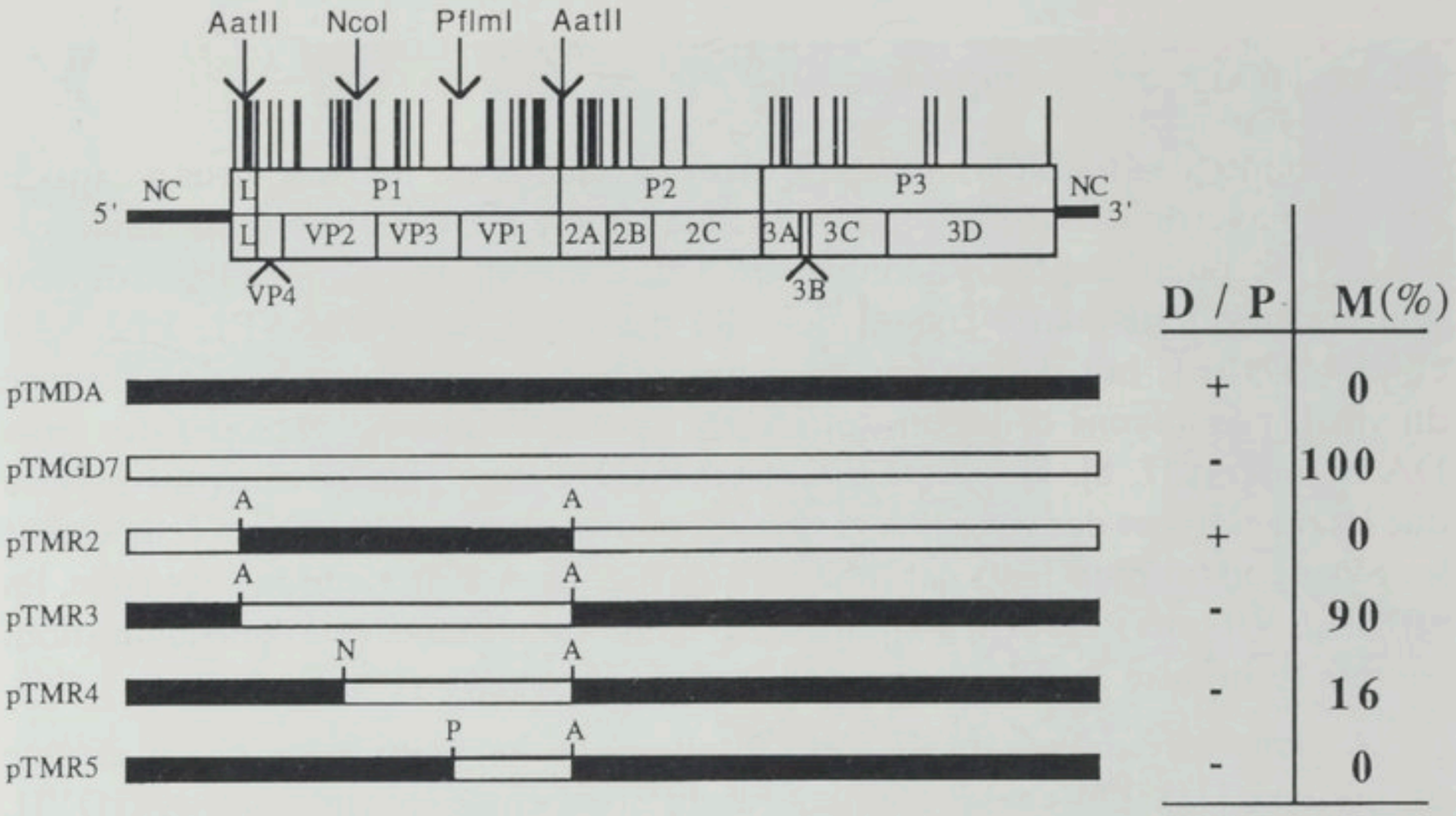



FIG. 2. Le haut de la Figure représente le génome du virus de Theiler en utilisant la nomenclature habituelle des gènes des picornavirus. La région P1 code pour les quatre protéines de capside VP1, VP2, VP3 et VP4. Les barres verticales indiquent la position des acides aminés communs aux souches persistantes DA et BeAn et différents chez la souche non persistante GDVII. Les flèches verticales indiquent la position des sites de restriction utilisés pour construire les virus chimériques. La partie inférieure de la Figure représente les cADN des souches DA (■), GDVII (□) et des virus chimériques. La partie droite de la Figure présente le phénotype de ces virus. D/P indique la présence (+) ou l'absence (-) de démyélinisation et persistance de l'infection, M ( %) indique le pourcentage de morts chez les souris inoculées avec les différents virus.

## GÈNES DE L'HÔTE ET SENSIBILITÉ À L'INFECTION PERSISTANTE

Des études déjà anciennes avaient montré que les lignées de souris consanguines ont des niveaux de sensibilité variés à la maladie déméylinisante. En particulier, les souris SJL/J sont très sensibles alors que les souris C57BL/6 sont résistantes. D'autres lignées sont de sensibilités intermédiaires, ce qui indique l'existence d'un contrôle plurigénique. Un de ces gènes est situé dans la région H-2 du Complexe Majeur d'Histocompatibilité (CMH), comme l'ont prouvé Rodriguez et son équipe en utilisant des souris de fond génétique C57BL/10 et d'haplotype H-2 varié (souris congéniques pour la région H-2) [14, 15]. A l'intérieur de la région H-2, la sensibilité semble être associée à une région codant pour des gènes de classe I, région située entre les gènes D et L [16].

La sensibilité à la maladie démyélinisante est très vraisemblablement contrôlée par plusieurs gènes de l'hôte dont les effets s'additionnent. Par ailleurs, il a été établi que la démyélinisation nécessite la persistance de l'infection dans le SNC. Nous avons donc simplifié l'analyse des gènes responsables de la sensibilité à la maladie en étudiant, dans un premier temps, ceux qui contrôlent la persistance de l'infection.

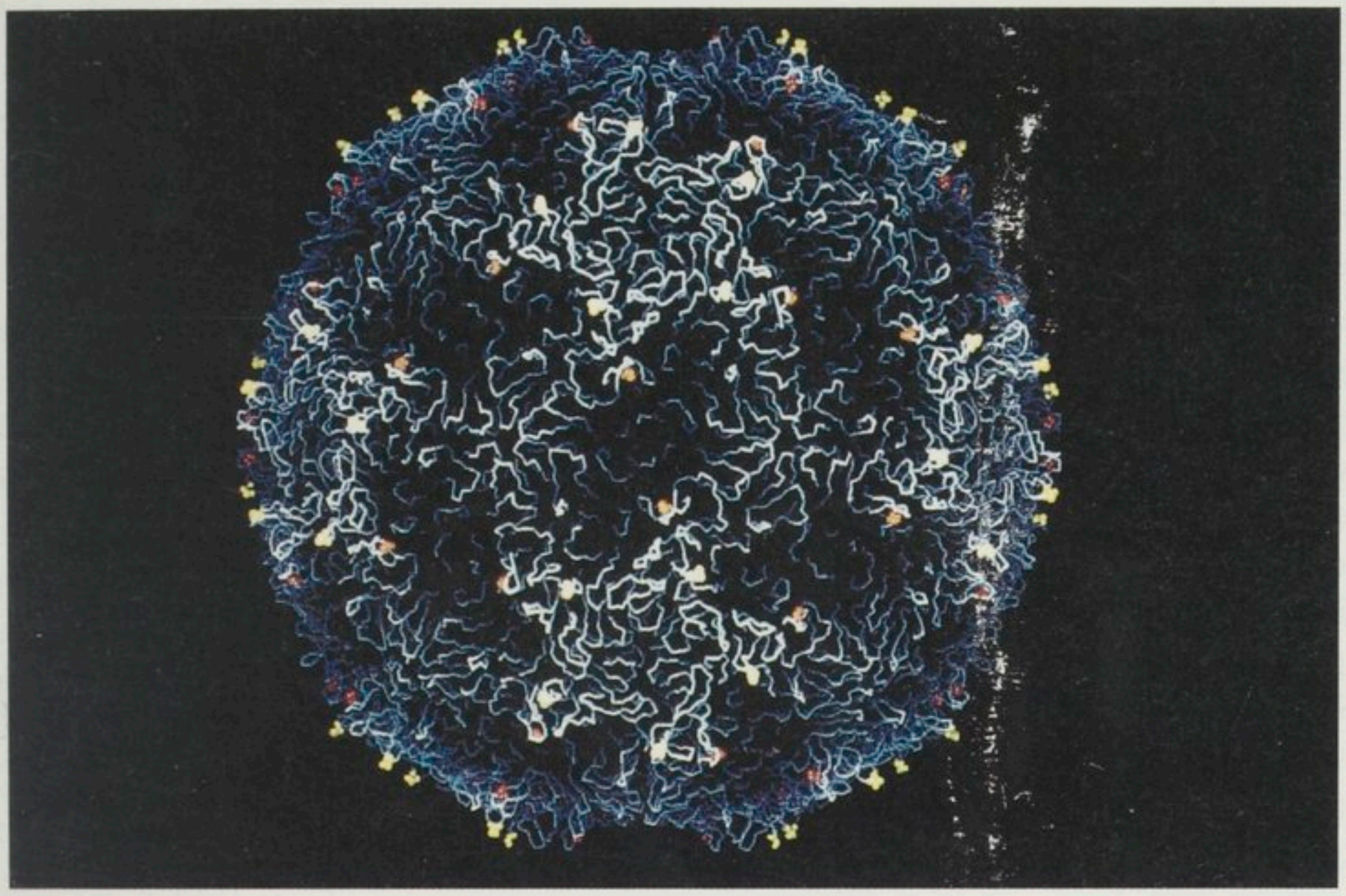


FIG. 3. Vue de la surface de la capside du virus de Theiler, souche DA. La structure de la capside a été résolue par diffraction des Rayons X par le groupe de J. Hogle (Université Harvard), à qui nous devons cette Figure. Seule la chaîne des carbones alpha est représentée. Les sphères orange représentent les chaînes latérales de l'acide aminé VP2-141. Les sphères jaunes représentent les chaînes latérales de l'acide aminé VP1-101. Ces acides aminés sont situés de part et d'autre d'une dépression qui est le site d'attachement vraisemblable du récepteur viral.

La persistance du virus peut être quantifiée en mesurant la quantité d'ARN viral dans le SNC. En étudiant un grand nombre de lignées de souris consanguines, leurs croisements F1 avec la lignée SJL/J, et des souris congéniques pour le région H-2, nous avons montré que le niveau de persistance virale dépend de l'interaction de deux groupes de gènes, dont l'un est situé dans la région H-2D [17]. Chez les souris résistantes d'haplotype H-$2^b$, ce gène est le gène H-$2D^b$ lui-même. En effet, les souris FVB (H-$2^q$), qui sont très sensibles à l'infection persistante, deviennent résistantes quand elles sont rendues transgéniques pour le gène H-$2D^b$ [18].

Deux loci, situés en dehors du CMH, et qui confèrent la sensibilité à la souris SJL/J, ont été identifiés grâce à l'utilisation des souris SJL/J et B10.S. La première est sensible, la seconde est résistante bien que toutes deux portent le même haplotype H-$2^s$. Les animaux issus d'un croisement entre ces deux lignées sont aussi sensibles que la souris SJL/J. Nous avons donc établi un croisement en retour (SJL/J × B10.S)F1 × B10.S. Les individus issus de ce croisement sont sensibles ou résistants selon qu'ils sont respectivement hété-

rozygotes ou homozygotes au niveau des loci contrôlant la persistance virale. La quantité de virus qui persiste dans le système nerveux de ces individus a été mesurée. L'ADN des mêmes individus a été caractérisé pour un grand nombre de loci polymorphes couvrant la totalité du génome et les quantités d'ARN viral, chez les souris homozygotes et hétérozygotes à ces loci, ont été comparées. Cette étude a mis en évidence deux loci associés à la persistance [19]. L'un est situé sur le chromosome 10, à proximité du gène codant pour l'interféron gamma (IFNG) ; l'autre sur le chromosome 18, à proximité du gène codant pour la protéine basique de la myéline (PBM). Le gène codant pour l'INFG est un bon candidat pour le contrôle de la persistance de l'infection, à cause de sa fonction. En effet, des souris résistantes d'haplotype H-$2^b$, deviennent extrêmement sensibles à la persistance et à la maladie démyélinisante après inactivation du gène codant pour le récepteur de l'IFNG [20]. Le gène codant pour la PBM est lui aussi un bon candidat, car son inactivation, par la mutation shi+/+, transforme les souris C3H, normalement sensibles, en souris résistantes (Bihl et col., en préparation). Ces études illustrent, de manière frappante, les possibilités offertes par les méthodes récentes de la génétique des mammifères pour l'étude des maladies infectieuses.

## Réponses immunitaires et pathogénie

L'étude des réponses immunitaires est indispensable à la compréhension de la pathogénie de cette maladie modèle. D'une part, le virus qui persiste échappe, par définition, à ces réponses. Le mécanisme de cet échappement est un problème essentiel de pathogénie. D'autre part, comme l'ont montré les travaux de plusieurs groupes, la destruction de la myéline est due, en grande partie, à une réponse immune dirigée contre des épitopes viraux [21, 22, 23].

Avant d'étudier les mécanismes d'échappement, il est nécessaire de définir les réponses immunes auxquelles le virus échappe. Ce n'est que récemment que l'existence de lymphocytes T cytotoxiques (CTL) a été démontrée au cours des infections par les picornavirus. L'effet cytopathogène rapide causé par la plupart des picornavirus aux cellules en cultures, empêche l'utilisation de cellules infectées comme cibles dans les tests de cytotoxicité. A l'aide d'un vecteur exprimant la totalité de la partie codante du génome du virus de Theiler, nous avons obtenu des cellules cibles stables qui ont permis de démontrer l'existence, chez les souris sensibles DBA/2 de CTLs CD8+, restreints par les molécules de classe I du CMH [24].

Les études génétiques décrites ci-dessus montrent que le gène H-$2D^b$ confère la résistance à l'infection persistante par le virus de Theiler [18]. On peut donc penser que des CTLs restreints par la molécule $D^b$ jouent un rôle important dans l'élimination de l'infection chez les souris résistantes H-$2^b$. Cette hypothèse a été testée en utilisant des souris n'exprimant pas les molécules de

classe I à cause de l'inactivation du gène codant pour la bêta-2 microglobuline. Ces souris ne possèdent pratiquement pas de lymphocytes CD8+. Elles ont été obtenues à partir de lignées H-$2^b$, donc résistantes. L'inactivation du gène de la bêta-2 microglobuline les rend sensibles à l'infection persistante de la substance blanche et à la démyélinisation [25].

Les CTLs jouent donc un rôle important dans l'élimination de l'infection de la substance blanche des souris résistantes. Ils sont, par contre, incapables d'éliminer l'infection chez des souris sensibles telles que les souris DBA/2. On pourrait penser que le répertoire des épitopes viraux présentés aux lymphocytes et le répertoire des récepteurs utilisés par ces derniers, sont insuffisants pour assurer l'élimination du virus chez les souris sensibles. Cependant, il est possible de protéger complètement les souris sensibles SJL/J contre l'infection persistante par immunisation préalable. Celle-ci peut être obtenue par inoculation intrapéritonéale avec le virus sauvage DA ou par inoculation intracérébrale avec un virus recombinant non persistant [26], (Larsson-Sciard et col., en préparation). Ces résultats indiquent que les souris sensibles disposent, en fait, d'un répertoire immunologique suffisant pour éliminer l'infection. Les virus persistants pourraient échapper à ces réponses, grâce à leur capside, en les devançant et en s'établissant dans une cellule cible spécifique où ils sont inaccessibles aux CTLs.

## Conclusion

A l'issue de cette brève revue de nos travaux des dernières années, il est utile d'en discuter les résultats dans le contexte général de la pathogénie des maladies inflammatoires chroniques du SNC. Le virus de Theiler est extrêmement répandu dans l'espèce souris où il ne cause, dans la majorité des cas, qu'une infection inapparente du tube digestif. Comme tout virus à ARN, il mute très facilement. Nos résultats ont montré qu'un nombre de mutations limité, parfois le changement d'un seul acide aminé, est capable de transformer une souche de virus de Theiler responsable d'une maladie aiguë en une souche persistante responsable d'une maladie chronique démyélinisante. Par ailleurs, la persistance de l'infection, et comme conséquence la maladie neurologique chronique, ne peuvent avoir lieu que si les individus sont porteurs d'allèles de sensibilité au niveau de plusieurs loci critiques. On voit donc comment, au sein d'une population d'individus génétiquement hétérogènes, exposés à un virus quasi ubiquitaire, peuvent apparaître des cas plus ou moins rares de maladies dégénératives chroniques dues à l'infection, par des souches virales porteuses de mutations particulières, d'individus génétiquement prédisposés. Il est concevable qu'une situation analogue soit à l'origine de certaines des maladies inflammatoires chroniques qui affligent l'homme, en particulier au niveau du SNC. Par exemple, le virus de la rougeole est retrouvé dans les lésions cérébrales de la panencéphalite sclérosante subaiguë, des années après une primo-infection géné-

ralement bénigne. Les virus isolés, à ce stade, présentent de nombreuses mutations par rapport aux virus morbilleux sauvages. Certaines de ces mutations jouent vraisemblablement un rôle, qui reste à définir, dans la persistance de l'infection. D'autres exemples pourraient être cités. De fait, plusieurs travaux sont en cours pour essayer d'identifier des mutations responsables des complications neurologiques rares de certaines maladies virales. Par contre, le rôle d'allèles conférant la sensibilité à ces maladies, est une notion plus récente. Pour l'instant, les gènes impliqués ont surtout été identifiés dans le cas de maladies murines. La maladie due au virus de Theiler est un des tout premiers exemples. Etant donné les remarquables avancées de la génétique humaine, ces dernières années, il devrait être possible d'identifier des gènes de sensibilité aux maladies humaines dans un avenir relativement proche.

Enfin, l'existence de facteurs génétiques de prédispositions a été amplement démontrée dans la sclérose en plaques, en particulier par l'étude de jumeaux. Par contre, bien que l'épidémiologie de la maladie implique des facteurs d'environnement, un virus responsable n'a jamais été identifié. Ce résultat négatif requiert cependant quelques commentaires. Plusieurs virus, fréquemment rencontrés dans les populations de souris, dont le coronavirus MHV et le virus de Theiler, sont responsables de maladies inflammatoires chroniques avec démyélinisation primaire. De plus, le virus JHM induit une maladie auto-immune démyélinisante chez le rat Lewis, puis disparaît du SNC [27]. Aucun virus n'est présent au moment où apparaissent les symptômes. On voit donc que plusieurs virus différents peuvent induire des lésions inflammatoires avec démyélinisation primaire, et ceci par des mécanismes variés, y compris auto-immuns. On peut formuler l'hypothèse que plusieurs virus communs dans l'espèce humaine puissent, peut-être à la suite de mutations spécifiques, et uniquement chez des individus génétiquement prédisposés, être à l'origine des lésions caractéristiques de la sclérose en plaques.

RÉSUMÉ

L'infection de la souris par le virus de Theiler est un modèle d'infection persistante du système nerveux central, accompagnée d'inflammation chronique et de démyélinisation primaire. La pathogénie de cette maladie a été étudiée à l'échelle moléculaire. La capside virale contrôle la migration du virus des neurones vers les cellules gliales de la substance blanche. Une région de la capside responsable de ce contrôle a été identifiée. La sensibilité des souris à l'infection persistante est déterminée par un minimum de trois gènes dont un, H-2D, a été identifié. Les deux autres ont été cartographiés sur deux loci. Il existe un gène candidat pour chacun de ces loci, le gène codant pour l'interféron gamma et le gène codant pour la protéine basique de la myéline. Le rôle des lymphocytes T cytotoxiques, dans la résistance à l'infection persistante, a été démontré.

L'ensemble de ces résultats illustre comment des mutations chez un virus ubiquitaire peuvent, chez des individus génétiquement prédisposés, induire une infection persistante et une maladie inflammatoire chronique. Des situations analogues pourraient exister chez l'homme.

MOTS-CLÉS : SYSTÈME NERVEUX CENTRAL, INFECTIONS. POLIOVIRUS MURIN. MALADIE DÉMYÉLINISANTE. MALADIE CHRONIQUE.

SUMMARY : *The infection of mouse by Theiler's virus ; a model for the study of demyelinating diseases of the central nervous system.*

The infection of mouse by Theiler's virus is a model for the study of persistent infections of the central nervous system accompanied with primary demyelination. The pathogenesis of this disease has been studied at the molecular level. The viral capsid controls the migration of the virus from the neurons to the glial cells of the white matter. A region of the capsid, which is responsible for this control, has been identified. The susceptibility of mice to this persistent infection is determined by at least three genes, one of which, H-2D, has been identified. Two other genes have been mapped ; one linked to the gene coding for gamma interferon, the other one to the gene coding for the myelin basic protein. The role of cytotoxic T lymphocytes in the resistance to persistent infection has been demonstrated. Taken together, these results illustrate how mutations in a ubiquitous virus may cause, in individuals which are genetically susceptible, a persistent infection and a chronic inflammatory disease. Similar situations could exist in man.

KEY-WORDS (Index Medicus) : POLIOVIRUSES, MURINE. DEMYELINATING DISEASES. CHRONIC DISEASE. CENTRAL NERVOUS SYSTEM INFECTIONS.

REMERCIEMENTS

L'auteur tient à remercier tous ses collaborateurs impliqués dans la réalisation de ce travail, en particulier A. Azoulay-Cayla, F. Bihl, J.F. Bureau, S. Chirinian-Syan, M. Delcroix, S. Dethlefs, L. Fiette, M. Gau, N. Jarousse, E.L. Larsson-Sciard, A. McAllister, T. Michiels, C. Morel, C. Pena Rossi, F. Tangy et M. Tuneskog. Ces travaux ont bénéficié de collaborations avec J. Hogle, Harvard University, M. Aguet, Genentech, J.L.Guénet et X. Montagutelli, Institut Pasteur.

## BIBLIOGRAPHIE


[1] THEILER M. — Spontaneous encephalomyelitis of mice : a new virus disease. *Science*, 1934, *80*, 122-123.

[2] THEILER M. — Spontaneous encephalomyelitis of mice, a new virus disease. *J Exp Med*, 1937, *55*, 705-719.

[3] DANIELS J.B., PAPPENHEIMER A.M., RICHARDSON S. — Observations on encephalomyelitis of mice (DA strain). *J Exp Med*, 1952, *96*, 22-24.

[4] DAL CANTO M.C., LIPTON H.L. — Primary demyelination in Theiler's virus infection. An ultrastructural study. *Lab Invest*, 1975, *33*, 626-637.

[5] LIPTON H.L. — Theiler's virus infection in mice : an unusual biphasic disease process leading to demyelination. *Infect Immun*, 1975, *11*, 1147-1155.

[6] AUBERT C., CHAMORRO M., BRAHIC M. — Identification of Theiler's virus infected cells in the central nervous system of the mouse during demyelinating disease. *Microb Pathogen*, 1987, *3*, 319-326.

[7] MCALLISTER A., TANGY F., AUBERT C., BRAHIC M. — Molecular cloning of the complete genome of Theiler's virus, strain DA, and production of infectious transcripts. *Microb Pathogen*, 1989, *7*, 381-388.

[8] TANGY F., MCALLISTER A., BRAHIC M. — Molecular cloning of the complete genome of Theiler's virus, strain GDVII, and production of infectious transcripts. *J Virol*, 1989, *63*, 1101-1106.

[9] MCALLISTER A., TANGY F., AUBERT C., BRAHIC M. — Genetic mapping of the ability of Theiler's virus to persist and demyelinate. *J Virol*, 1990, *64*, 4252-4257. (Authors'correction, *67*, 2427, 1993).

[10] TANGY F., MCALLISTER A., AUBERT C., BRAHIC M. — Determinants of persistence and demyelination of the DA strain of Theiler's virus are found only in the VP1 gene. *J Virol*, 1991, *65*, 1616-1618. (Authors'correction, *67*, 2427, 1993).

[11] GRANT R.A., FILMAN D.J., FUJINAMI R.S., ICENOGLE J.P., HOGLE J.M., THREE-DIMENSIONAL STRUCTURE OF THEILER'S VIRUS. *Proc Natl Acad Sci*, 1992, *89*, 2061-2065.

[12] JAROUSSE N., GRANT R.A., HOGLE J.M., ZHANG L., SENKOWSKI A., ROOS R.P., MICHIELS T., BRAHIC M., MCALLISTER A. — A single amino acid change determines persistence of a chimeric Theiler's virus. *J Virol*, 1994, *68*, 3364-3368.

[13] JAROUSSE N., FIETTE L., GRANT R.A., HOGLE J.M., MCALLISTER A., MICHIELS T., AUBERT C., BRAHIC M., PENA ROSSI C. — Chimeric Theiler's virus with altered tropism for the central nervous system. *J Virol*, 1994, *68*, 2781-2786.

[14] CLATCH R.J., MELVOLD R.W., MILLER S.D., LIPTON H.L. — Theiler's murine encephalomyelitis virus (TMEV) induced demyelinating disease in mice is influenced by the H-2D region : correlation with TMEV specific delayed-type hypersensitivity. *J Immunol*, 1985, *135*, 1408-1413.

[15] RODRIGUEZ M., DAVID C.S. — Demyelination induced by Theiler's virus : influence of the H-2 haplotype. *J Immunol*, 1985, *135*, 2145-2148.

[16] RODRIGUEZ M., LEIBOWITZ J.L., DAVID C.S. — Susceptibility to Theiler's virus-induced demyelination. Mapping of the gene within the H-2D region. *J Exp Med*, 1986, *163*, 620-631.

[17] Bureau J.F., Montagutelli X., Lefebvre S., Guenet J.-L., Pla M., Brahic M. — The interaction of two groups of murine genes controls the persistence of Theiler's virus in the central nervous system. *J Virol*, 1992, *66*, 4698-4704.

[18] Azoulay A., Brahic M., Bureau J.F. — FVB mice transgenic for the $D^b$ gene become resistant to persistent infection by Theiler's virus. *Journal of virology*, 1994, *68*, 4049-4052.

[19] Bureau J.F., Montagutelli X., Bihl F., Lefebvre S., Guénet J.L., Brahic M. — Mapping loci influencing the persistence of Theiler's virus in the murine central nervous system. *Nature Genetics*, 1993, *5*, 87-91.

[20] Fiette L., Aubert C., Müller U., Huang S., Aguet M., Brahic M., Bureau J.F. — Theiler's virus infection of 129Sv mice that lack the inferferon Alpha/Beta or interferon Gamma receptors. *J Exp Med*, 1995, *181*, 2069-2076.

[21] Gerety S.J., Clatch R.J., Lipton H.L., Goswami R.G., Rundell M.K., Miller S.D. — Class II-restricted T cell responses in Theiler's murine encephalomyelitis virus-induced demyelinating disease. IV. Identification of an immunodominant T cell determinant on the N-Terminal end of the VP2 capsid protein in susceptible SJL/J mice. *J Immunol*, 1991, *146*, 2401-208.

[22] Gerety S.J., Karpus W.J., Cubbon A.R., Goswami R.G., Rundell M.K., Peterson J.D., Miller S.D. — Class II-restricted T cell responses in Theiler's murine encephalomyelitis virus-induced demyelinating disease. V. Mapping of a dominant immunopathologic VP2 T cell epitope in susceptible SJL/J mice. *J Immunol*, 1994, *152*, 908-918.

[23] Gerety S.J., Rundell M.K., Dal Canto M.C., Miller S.D. — Class II-restricted T cell responses in Theiler's murine encephalomyelitis virus-induced demyelinating disease. *J Immunol*, 1994, *152*, 919-929.

[24] Pena Rossi C., McAllister A., Fiette L., Brahic M. — Theiler's virus infection induces a specific cytotoxic T lymphocyte response. *Cell Immunol*, 1991, *138*, 341-348.

[25] Fiette L., Aubert C., Brahic M., Pena Rossi C. — Theiler's virus infection of β2-microglobulin-deficient mice. *J Virol*, 1993, *67*, 589-592.

[26] Crane M.A., Yanch R., Dal Canto M.C., Kim B.S. — Effect of immunization with Theiler's virus on the course of demyelinating disease. *J Neuroimmunol*, 1993, *45*, 67-74.

[27] Watanabe R., Wege H., ter Meulen V. — Adoptive transfer of EAE-like lesions from rats with coronavirus-induced demyelinating encephalomyelitis. *Nature*, 1983, *305*, 150-153.

## DISCUSSION

M. Jean Cambier : Dans la mesure où la maladie de Theiler peut servir de modèle, nous aimerions quelques précisions sur l'aspect des lésions de la substance blanche et sur leur mode évolutif ? Y a-t-il des plaques ? Peut-on parler de poussées ? La maladie humaine, qui présente quelques analogies, ne serait-elle pas plutôt l'encéphalite morbilleuse avec ses divers aspects : encéphalite aiguë, encéphalite secondaire, leuco-encéphalite sclérosante subaiguë ? Dans ce cas, la persistance du virus est démontrée.

M. Michel Bourel : A-t-on mis au point des races de souris homogènes soit résistantes, soit réceptrices du virus de Theiler ? aussi bien face à l'infes-

tation spontanée qu'à celles qui sont, expérimentalement, provoquées (inoculations) ?

M. Brahic : — à M. Cambier : Les lésions de la substance blanche, qui sont exclusivement situées au niveau de la moelle épinière, sont focales. Sur des coupes transversales, elles ont l'aspect de plaques nettement circonscrites, n'occupant qu'une partie d'un cordon de substance blanche. Ces lésions inflammatoires contiennent des lymphocytes T et B, de nombreux macrophages contenant des débris de myéline et de nombreux axones démyélinisés. Chez certaines souris consanguines, par exemple la souris C3H, les images de remyélinisation sont fréquentes. Ces lésions se rapprochent donc des plaques actives observées chez les malades atteints de sclérose en plaques. Par contre, il est rare d'observer des lésions sclérotiques, non inflammatoires, dans ce modèle murin. Il est difficile de parler de « poussées », dans la mesure où la définition des signes neurologiques est très primitive chez la souris. Seuls les troubles moteurs relativement importants sont notés par l'expérimentateur. A ce niveau, on n'observe pas de « poussées » mais plutôt une évolution de type chronique progressive. Il est bien évident qu'il ne s'agit que d'un modèle qui ne reproduit que certains aspects de la sclérose en plaques. Les analogies avec l'encéphalite morbilleuse sont en effet particulièrement intéressantes. Les lésions histologiques sont cependant assez différentes. Contrairement à la panencéphalite sclérosante subaiguë, la maladie chronique due au virus de Theiler affecte exclusivement la substance blanche.

— à M. Bourel : J'ai dû mal m'exprimer au cours de mon exposé. En effet, les travaux que j'ai présentés, qui ont permis d'identifier certains gènes responsables de la sensibilité ou de la résistance à cette infection, font appel à des lignées de souris consanguines dont les degrés de résistance ou de sensibilité sont différents. Certaines lignées sont totalement résistantes, d'autres sont très sensibles, d'autres enfin sont de sensibilité intermédiaire. Cette variabilité reflète le fait que plusieurs gènes, existant chacun sous plusieurs formes alléliques, sont impliqués dans ce phénomène.

*Bull. Acad. Natle. Méd.*, 1996, *180*, n° 2, 317-331, séance du 6 février 1996

# Apport de la chirurgie plastique dans le traitement du cancer du sein

Jean-Yves PETIT *, Andrée LEHMANN **

Les implications psychologiques des traitements du cancer du sein font aujourd'hui partie intégrante des critères d'évaluation de ces traitements. Un effort constant est fait, depuis une vingtaine d'années, pour réduire le caractère mutilant des traitements chirurgicaux. Parallèlement se sont développés des protocoles chirurgicaux conservateurs du sein et des techniques de plus en plus sophistiquées de reconstruction mammaire (RM).

Aujourd'hui, après de nombreuses années d'application de ces protocoles, on constate que le nombre de femmes devant subir une mastectomie est de plus en plus réduit : moins de 50 % des nouvelles malades accueillies dans les centres anticancéreux français et jusqu'à 10 à 20 % dans certaines équipes qui privilégient systématiquement le traitement conservateur. Parmi les malades qui ont eu une mastectomie, un grand nombre bénéficie aujourd'hui d'une RM, et ceci d'autant plus fréquemment lorsque la RM est proposée immédiatement au moment de la mastectomie. Une étude récente, aux Etats-Unis, ne retrouve globalement qu'un pourcentage relativement bas de RM par rapport aux mastectomies réalisées, (autour de 7 %) [1], ce qui contraste avec notre expérience dans les centres spécialisés où le pourcentage de malades souhaitant une RM immédiate est supérieur à 50 %. Les indications de la reconstruction immédiate sont encore discutées et certains les réservent uniquement aux cancers *in situ*. Dans notre expérience à l'Institut Gustave-Roussy, le taux de complications immédiates pouvant avoir un retard du traitement adjuvant (compris entre 2 et 4 %), a été jugé suffisamment bas pour ne pas contre-indiquer la chirurgie plastique au moment de la mastectomie.

Les techniques de chirurgie plastique sont associées, de plus en plus souvent, à la chirurgie carcinologique. Ainsi les traitements conservateurs sont évalués non seulement sur leurs taux de guérison, mais aussi sur leurs résultats esthétiques. Pour améliorer ces résultats, la reconstruction partielle du sein dans

---

* Lauréat du Prix Drieu et Chollet, 1992.
Institut Gustave-Roussy (Villejuif) et Institut Européen d'Oncologie (Milan).
** Institut Gustave-Roussy

*Tirés-à-part* : Jean-Yves PETIT, Institut Européen d'Oncologie via, Ripamonti 435 — 20141 Milan - Italie. Fax (39) 2 57 48 97 23.
*Article reçu le 30 octobre 1995, accepté le 20 novembre 1995.*

certains cas de quadrantectomie peut justifier des techniques complexes telles que les lambeaux glandulaires, musculo-glandulaires ou musculo-cutanés, pour remodeler harmonieusement le sein. Parfois même, la symétrie ne peut être rétablie qu'en faisant une plastie de réduction du sein controlatéral. La chirurgie exploratrice à visée diagnostique, dans les lésions impalpables, peut nécessiter des approches dérivées des techniques de chirurgie plastique.

Cette intrication entre la chirurgie carcinologique et la chirurgie plastique pose le problème du travail à double équipe, en permanence et sur le même lieu. La double compétence, résultant d'une formation en chirurgie carcinologique et en chirurgie plastique, pourrait constituter une alternative avantageuse pour la malade et pour l'organisation du bloc opératoire. La prise en compte des effets psychologiques de l'acte chirurgical justifie pleinement soit la double compétence du chirurgien, soit la collaboration permanente de deux équipes (carcinologique et plastique), comme c'est le cas à l'Institut Européen de Milan. En outre, à l'Institut Gustave-Roussy, la présence d'une psychanalyste au sein de notre équipe a permis non seulement de mieux comprendre le retentissement psychologique de ces traitements, mais aussi de soutenir et éventuellement de traiter les effets perturbants des agressions thérapeutiques.

## La remise en question de la chirurgie mutilante

La chirurgie radicale, dont on doit la description et la promotion de la technique à Halsted, est restée la seule utilisée jusqu'au début des années 60. Cette chirurgie a atteint son développement maximum avec les interventions supra-radicales proposées par certains auteurs américains [2]. L'importante mutilation résultant de ces opérations comportant la résection des muscles pectoraux, des vaisseaux, des nerfs du creux axillaire, et des ganglions de la chaîne mammaire interne, causait un traumatisme psychologique majeur. Des chirurgiens européens, Lacour et Veronesi, proposèrent d'évaluer l'efficacité du curage mammaire interne par un essai thérapeutique. Ce fut l'un des premiers essais thérapeutiques en carcinologie mammaire. Il permit d'amorcer la désescalade des traitements mutilants dans le cancer du sein. En effet, les résultats de cet essai montrèrent que la chirurgie supra-radicale, représentée par le groupe des patientes ayant eu un curage mammaire interne, ne permettait pas d'obtenir une amélioration de la survie [3]. Ces résultats furent les premiers à montrer les limites des traitements loco-régionaux et à suggérer que la diffusion métastatique pouvait avoir lieu précocement et ne pouvait être combattue que par des traitements systémiques.

A peu près à la même période, les radiothérapeutes, sous l'influence de Baclesse [4], ont proposé de remplacer la mastectomie par une radiothérapie exclusive ; mais, devant les inconvénients et les échecs de cette méthode, ils ont proposé de remplacer le traitement radiothérapique exclusif par une association

radio-chirurgicale non mutilante, connue aujourd'hui sous le nom de « traitement conservateur ». Trois grands essais thérapeutiques ont montré la validité de ce traitement conservateur [5-7].

Aujourd'hui, 60 à 70 % des femmes porteuses d'un cancer du sein bénéficient d'un traitement conservateur. Ce pourcentage est encore augmenté avec la possibilité d'obtenir une réduction tumorale partielle, et parfois même totale, grâce à une chimiothérapie préopératoire [8].

## La prise en compte des facteurs psychologiques

Dans les années 70, les cancérologues français ont été les pionniers dans ce domaine. Leur objectif n'est plus de guérir à n'importe quel prix mais de prendre en compte aussi la qualité psychologique de cette guérison. C'est avec la même motivation que les cancérologues de l'Institut Gustave-Roussy (IGR) ont promu la RM après mastectomie. L'intégration des techniques de chirurgie plastique dans le protocole du cancer du sein s'est faite progressivement, depuis 1975, avec l'aide du Département de Psychologie Médicale. L'une d'entre nous, psychanalyste dans notre équipe, travaille depuis plus de quinze ans en collaboration avec le groupe de pathologie mammaire. Elle a mené plusieurs études qui ont montré le bénéfice de cette chirurgie plastique, qu'elle soit différée ou immédiate [9]. Les conclusions de ces études justifient les efforts faits pour développer et améliorer les techniques de reconstruction mammaire. La RM apporte un sentiment de mieux être. Les femmes sont débarrassées de cette prothèse amovible plus ou moins bien tolérée, souvent ressentie comme un rappel de la maladie et de la mastectomie. Sur le plan esthétique, quelque chose est acquis. A la place de ce qu'elles appelaient « un trou », il y a un « autre sein » auquel la femme va devoir s'habituer, et le « faire sien ». Accepter le sein reconstruit, se faire à cette nouvelle image, demande du temps et nécessite un cheminement personnel dans lequel les critères esthétiques ne sont pas seuls en cause. Ainsi la femme doit réaliser un véritable travail de deuil amorcé avec la mastectomie, lorsque la RM est différée. Elle doit aussi, au décours de la RM, perdre l'illusion que le sein perdu pourrait être retrouvé à la faveur de cette reconstruction. En résumé, la RM est vécue de manière très différente selon les femmes. La façon dont elles réagissent n'est pas sans lien avec ce qui a motivé la demande de reconstruction. Les femmes qui l'utilisent pour occulter la mastectomie seront toujours insatisfaites. Par contre, celles qui ont affronté la perte, et ont effectué un travail de deuil suffisamment poussé après la mastectomie, sont plus à même de supporter les difficultés inhérentes à cette nouvelle intervention, d'en accepter les limites et donc d'en apprécier les effets positifs. En dépit de ces difficultés, la reconstruction restitue à la femme une certaine qualité de vie, et une aisance dans sa vie relationnelle.

*Bull. Acad. Natle. Méd.*, 1996, *180*, n° 2, 317-331, séance du 6 février 1996

## L'INTRODUCTION DES TECHNIQUES DE CHIRURGIE PLASTIQUE DANS LES PROTOCOLES DE TRAITEMENT DU CANCER DU SEIN

Avant de commencer cette chirurgie à l'IGR en 1975, nous avions déjà eu l'occasion de proposer une reconstruction mammaire à certaines malades très demandeuses et guéries depuis de nombreuses années. Ces malades avaient été adressées au Professeur C. Dufourmentel, qui fut le véritable pionnier de la reconstruction mammaire en France. Il a publié le premier article faisant le point de cette opération dans les *Mémoires de l'Académie de Chirurgie,* en 1978 [10]. Après avoir profité de son enseignement, nous avons développé cette technique à l'IGR et proposé cette reconstruction de plus en plus souvent aux malades, après décision collégiale avec l'équipe carcinologique.

Jusqu'en 1985, ces opérations sont restées relativement exceptionnelles ; elles étaient proposées aux femmes particulièrement motivées et ayant au moins 5 ans de recul sans récidives ni métastases. A cette époque, de rares reconstructions immédiates ont été faites en cas de carcinome *in situ* ou de mastectomie prophylactique. La technique se limitait à insérer une prothèse de silicone sous la peau d'abord, puis sous le muscle pectoral pour diminuer le risque de contracture, dont le taux était voisin de 70 à 80 %.

Après ces premiers essais, dont les résultats esthétiques restaient très moyens dans l'ensemble, la reconstruction ayant été reconnue par les cancérologues, les équipes de chirurgie plastique, dont la nôtre à l'IGR, ont développé de nouvelles techniques et apporté des raffinements aux techniques déjà connues afin d'obtenir des résultats beaucoup plus harmonieux. Ainsi, le nombre de reconstructions mammaires a considérablement augmenté. Plus de 2 000 malades ont eu une certaine forme de reconstruction mammaire à l'IGR, entre 1976 et 1994.

Le matériel prothétique s'est amélioré ; mais dans les années 90, l'innocuité du silicone a été remise en question par la *Food and Drug Administration* à la suite de certaines expérimentations et de certaines publications mentionnant l'apparition de maladies auto-immunes, chez des malades porteuses de prothèses de silicone. Plusieurs pays, dont la France, ont instauré des moratoires pour laisser le temps à des groupes d'experts de faire le point sur les risques liés à l'utilisation de ce produit.

Profitant de notre expérience déjà ancienne dans le domaine de la reconstruction mammaire, nous avons étudié le risque carcinologique éventuellement associé à l'exposition de l'organisme au silicone. Les résultats de notre étude, publiés dans le *New England Journal of Medicine* [11] puis dans le *Journal of Plastic and Reconstructive Surgery* [12], nous ont rassurés complètement sur l'innocuité des prothèses en ce qui concerne le risque carcinologique. Les malades exposées durant plus de 12 années au silicone n'avaient pas plus de récidives et de métastases ou une mortalité plus élevée que celles du groupe contrôle,

strictement apparié par les statisticiens. Au contraire, les résultats étaient plus défavorables de façon légèrement significative pour le groupe n'ayant pas eu de contact avec le silicone (tableau I). Le caractère rétrospectif de cette étude ne permet pas d'éliminer totalement un biais de sélection. Quoi qu'il en soit, cette étude apporte des résultats suggérant fortement l'innocuité du silicone chez ces malades qui, pourtant, ont déjà montré une suceptibilité biologique particulière à la maladie cancéreuse. Quant aux risques immunitaires liés à l'exposition au silicone après la mise en évidence d'un certain nombre de cas d'association prothèse-maladie auto-immune, ils ne semblent pas se confirmer au vu des dernières études épidémiologiques [13, 14]. Ces résultats, observés après reconstruction mammaire, ne permettent pas pour autant d'affirmer que l'introduction de silicone dans l'organisme ait un effet thérapeutique sur le plan carcinologique. Toutefois, les études récentes mettent l'accent sur le rapport étroit entre le stroma et la croissance tumorale, et sur les facteurs de croissance liés aux fibroblastes [15], dont on sait qu'ils constituent la trame cellulaire des capsules périprothétiques (les fibroblastes sont à l'origine de la contracture périprothétique qui survient dans 10 à 20 % des cas des plasties d'augmentation et des reconstructions mammaires). Ces fibroblastes, stimulés par la présence de l'implant, peuvent-ils jouer un rôle sur la croissance tumorale ? De nouvelles recherches, en collaboration avec les laboratoires de biologie moléculaire, sont justifiées pour mieux connaître le rôle exact des implants siliconés. Cet exemple montre l'importance de la collaboration entre les cliniciens et les chercheurs, dans un domaine qui pouvait paraître éloigné des préoccupations de la recherche fondamentale. Il y a urgence à mettre en œuvre de tels programmes de recherche alors que le ministre de l'Economie a signé, il y a un an, un décret interdisant la fabrication et la vente de prothèses contenant autre chose que du sérum physiologique ; position qui se révèle être la plus restrictive, comparativement à tous les autres pays, puisque l'utilisation des prothèses contenant du gel de silicone est autorisée, aujourd'hui, dans tous les pays de la Communauté européenne.

## Les progrès des techniques de chirurgie plastique

Aujourd'hui, les techniques les plus sophistiquées de reconstruction mammaire sont mises à la disposition des femmes prises en charge par les grands centres de traitement du cancer du sein. La qualité du matériel prothétique s'est beaucoup améliorée sous l'influence des récentes discussions à propos du silicone, et malgré les limitations imposées depuis peu. Les techniques de reconstruction se sont diversifiées et permettent d'obtenir des résultats satisfaisants chez des malades porteuses de séquelles thoraciques importantes, et qui auraient fait l'objet d'une contre-indication il y a quelques années (photos 1-4). Les lambeaux abdominaux pédiculés ou utilisés comme transplants libres, grâce à la microchirurgie, permettent d'obtenir des reconstructions harmonieuses et d'adapter la forme du sein à la morphologie de la femme.

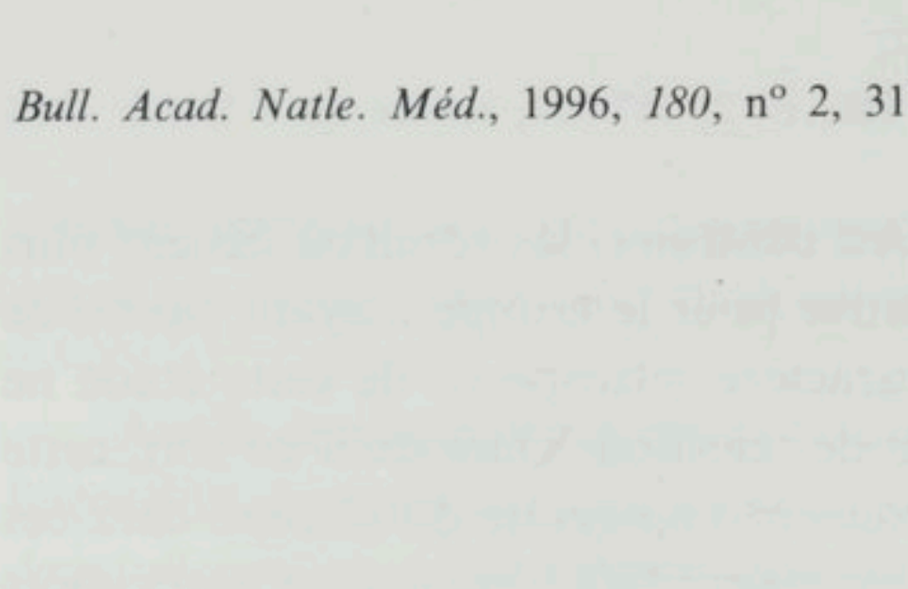


PHOTO n° 1. — Reconstruction mammaire immédiate par prothèse.

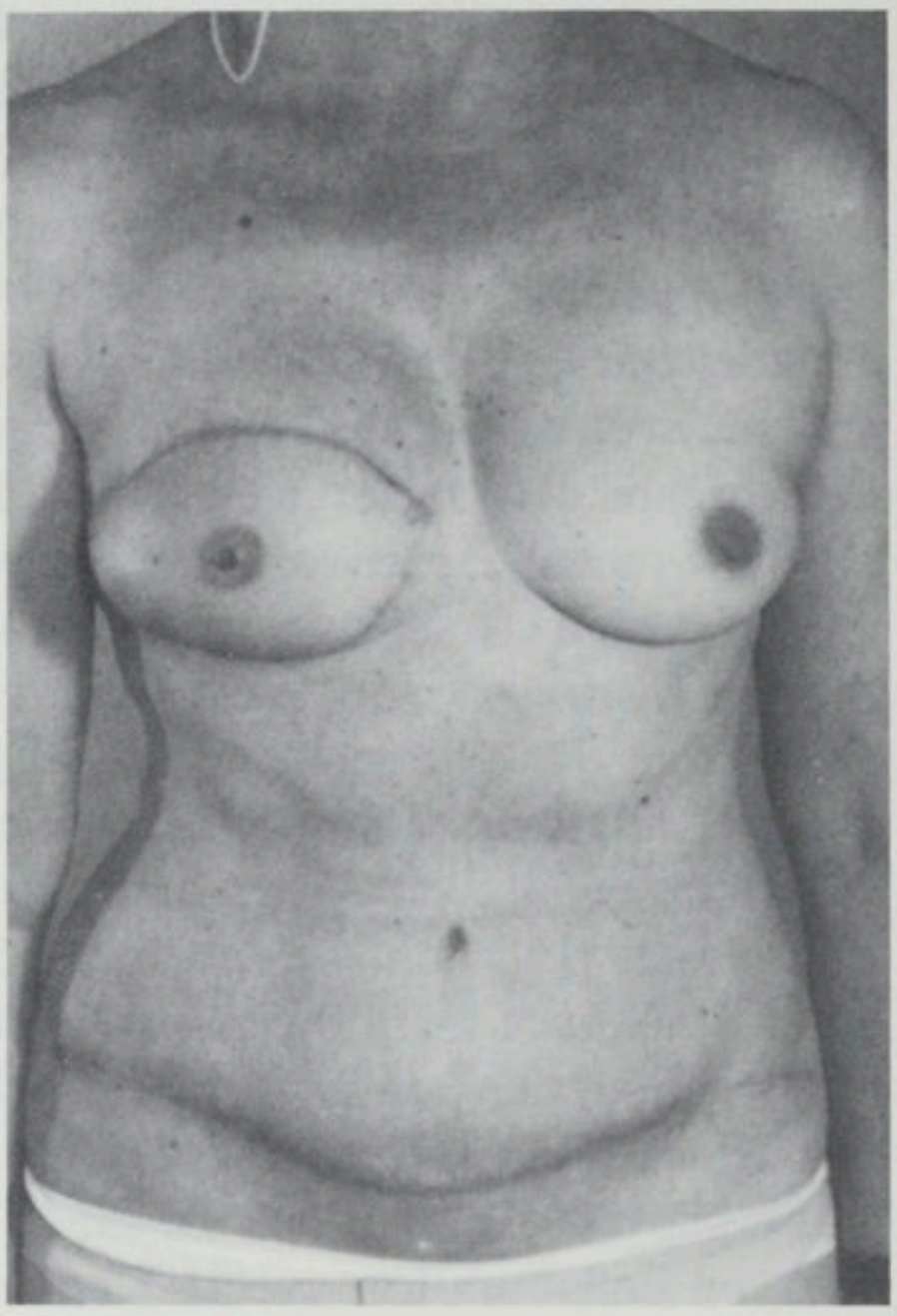
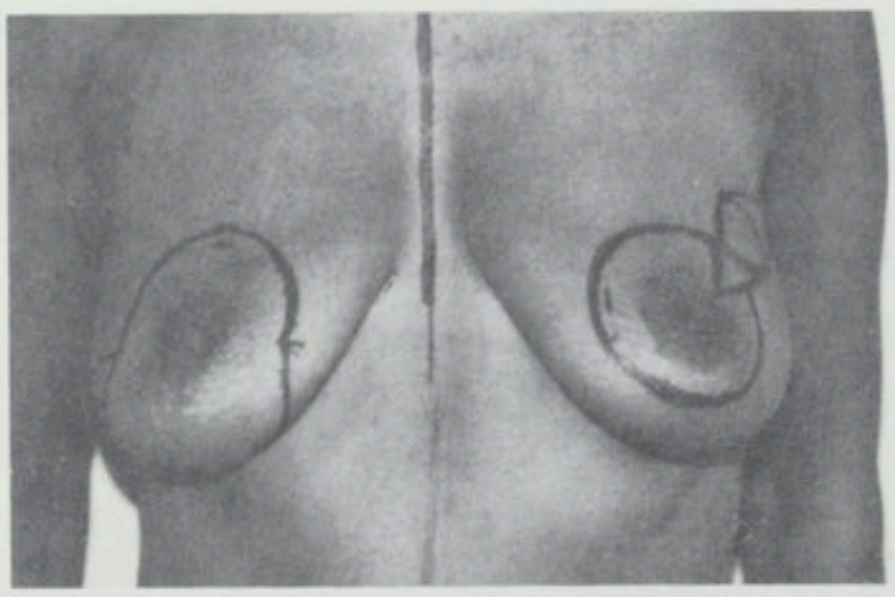


PHOTO n° 2. — Reconstruction mammaire différée par lambeau abdominal sans prothèse.



PHOTOS n° 3 et 4. — Reconstruction partielle avec symétrisation cardiolatérale.

La reconstruction est proposée le plus souvent au moment de la mastectomie lorsque celle-ci reste indiquée. Elle fait partie intégrante des protocoles de traitement du cancer du sein.

L'exemple le plus concret d'association des techniques, se retrouve dans le traitement conservateur. Nous avons observé en effet, à l'IGR, dans une étude

TABLEAU I. — 146 RM avec prothèse en silicone comparées à 146 témoins appariés sans RM. Risque Relatif, Taux de mortalité à 10 ans et second cancer.

| évenements | groupe | N | RR | p | Taux à 10 ans |
|---|---|---|---|---|---|
| mortalité | T | 26 | 1 | | 18% (13%-26%) |
| | RM | 16 | 0.6 | 0.07 | 10% (6%-16%) |
| mort /cancer | T | 25 | 1 | | 18% (12%-26%) |
| | RM | 15 | 0.5 | 0.05 | 9% (5%-15%) |
| métastase à distance | T | 35 | 1 | | 24% (18%-32%) |
| | RM | 19 | 0.5 | 0.01 | 12% (8%-18%) |
| récidive locale | T | 21 | 1 | | 15% (10%-21%) |
| | RM | 13 | 0.5 | 0.07 | 8% (5%-14%) |
| bilatéralisation | T | 10 | 1 | | 7% (4%-12%) |
| | RM | 12 | 1.1 | NS | 8% (5%-14%) |
| autres cancers | T | 7 | 1 | | 6% (3%-12%) |
| | RM | 5 | 0.8 | NS | 4% (2%-10%) |

concernant les premiers traitements conservateurs, que les résultats esthétiques étaient relativement décevants (tableau II). Les résultats étaient particulièrement mauvais lorsque la tumeur est localisée dans la moitié inférieure ou dans la partie centrale du sein. Les résultats esthétiques sont également dépendants de la taille du prélèvement glandulaire. Les pertes de substance consécutives aux quadrantectomies, telles qu'elles sont proposées par Veronesi, ne peuvent être comblées que par des plasties glandulaires dont certaines techniques ont été mises au point dans notre équipe. Ainsi, depuis de nombreuses années, nous avons proposé d'adapter le principe de la plastie de réduction mammaire à visée esthétique au traitement carcinologique conservateur [16]. Ce principe a été repris, depuis, par d'autres chirurgiens, notamment dans les centres anti-

TABLEAU II. — Résultats esthétiques après traitement conservateur

| qualité | 5 ans | 10 ans |
|---|---|---|
| bonne | 54% | 34% |
| moyenne | 38% | 44% |
| mauvaise | 8% | 22% |

cancéreux. Finalement, la tumorectomie pour cancer est devenue une opération difficile, qui permet de respecter les règles carcinologiques de l'exérèse complète de la tumeur, avec une marge de tissu sain tout en préservant la morphologie et la symétrie.

## CHIRURGIE DES LÉSIONS NON PALPABLES

Le respect de certaines règles pour les incisions, bien connues des chirurgiens plasticiens, fait partie aujourd'hui des moyens techniques à la disposition du chirurgien cancérologue. Ces connaissances sont d'autant plus utiles que les campagnes de dépistage font découvrir des lésions suspectes non palpables, qui posent des problèmes de repérage pour le chirurgien. Ces lésions difficiles à localiser risquent de laisser des séquelles chirurgicales lorsque le chirurgien ne possède pas la connaissance de ces moyens techniques, dérivés de la chirurgie plastique. De plus, la collaboration entre le radiologue et le chirurgien est fondamentale pour éviter des erreurs au cours du prélèvement. Le plus souvent, ces lésions se limitent à la présence de microcalcifications. Les différentes techniques de repérage radiologique avant l'opération, notamment stéréotaxiques, indiquent de façon précise la localisation du foyer. Le fil métallique mis en place, ou la solution de charbon injectée au voisinage de la lésion, permettent de guider le geste du chirurgien qui gagne encore en précision lorsque celui-ci s'est donné la peine de discuter les images avec son collègue diagnosticien.

La radiographie de la pièce opératoire s'impose, dans tous les cas, pour affirmer la présence des microcalcifications dans le prélèvement et ainsi s'assurer

que la totalité du foyer a bien été enlevée. Lorsque la pièce ne contient pas la lésion et les microcalcifications, le chirurgien doit reprendre les marges de son prélèvement au risque de modifier sensiblement la forme du sein. Cette chirurgie des lésions non palpables, dans notre expérience à l'Institut Gustave-Roussy, ne met en évidence une lésion maligne que dans 50 % des prélèvements. Il est donc capital de tout faire pour obtenir un résultat ésthétique satisfaisant chez ces patientes porteuses, dans la moitié des cas, d'une lésion bénigne.

Les études faites sur les résultats esthétiques des explorations mammaires, aussi bien que des traitements conservateurs, ont toutes montré qu'il est toujours préférable de chercher à obtenir le meilleur résultat possible immédiatement plutôt que de vouloir essayer d'améliorer ce résultat, secondairement, par une deuxième opération [17].

## En conclusion

Le travail poursuivi depuis de nombreuses années à l'IGR porte ses fruits et prouve que, si la chirurgie n'est pas au centre des recherches concernant le traitement du cancer du sein, elle reste un domaine très important au quotidien pour les malades. L'intégration des techniques de chirurgie plastique, dans les protocoles de traitement, est un objectif atteint aujourd'hui par notre équipe et adopté par de nombreuses autres équipes, en France et à l'étranger.

L'innovation réelle a été de construire un pont entre deux spécialités : la chirurgie cancérologique et la chirurgie plastique. La réunion des deux en une spécialité unique que l'on pourrait appeler la chirurgie sénologique, paraît à certains un objectif irréaliste. Les chirurgiens cancérologues suspectent les plasticiens de se préoccuper davantage du résultat esthétique que de la sécurité cancérologique. Cet argument peut être retourné aisément car le plasticien, qui connaît toutes les techniques de comblement des pertes de substance, peut se sentir moins bridé dans son exérèse que le cancérologue. La difficulté réelle que l'on peut ressentir lorsque, comme c'est le cas pour un certain nombre de chirurgiens des Centres anti-cancéreux, nous assumons le double rôle, provient de la double démarche psychologique que nous devons avoir vis-à-vis de la malade. Il peut arriver que, lors d'une consultation de surveillance d'une malade ayant eu une RM immédiate ou différée, nous ne fassions pas l'effort suffisant pour séparer l'examen carcinologique de l'examen plastique, surtout lorsque d'emblée la malade oriente la discussion sur un point ayant trait à l'aspect morphologique. Cette démarche est fréquente chez les malades qui ne veulent plus entendre parler du cancer et préfèrent limiter la discussion au résultat esthétique. La double compétence du chirurgien « sénologue » doit donc comporter aussi une formation psychologique qui lui permet d'assumer à la fois la vigilance du cancérologue et le sens esthétique du plasticien. Le gain, pour les femmes, est évident car le chirurgien sénologue, possédant la double compétence, peut à la fois la conseiller lorsqu'elle s'adresse à lui pour une indication

*Bull. Acad. Natle. Méd.*, 1996, *180*, n° 2, 317-331, séance du 6 février 1996

de chirurgie esthétique et ne pas négliger de lui faire un dépistage cancérologique. Il peut aussi prendre en charge le traitement chirurgical d'un cancer en assurant la malade de garder un résultat esthétique satisfaisant en cas de traitement conservateur ou en lui proposant une reconstruction mammaire immédiate, si la mastectomie est requise.

RÉSUMÉ

La remise en question de la chirurgie mutilante constitue l'un des grands progrès du traitement du cancer du sein. La chirurgie plastique, introduite à différents niveaux du traitement chirurgical, permet aujourd'hui de minimiser les effets psychologiques néfastes des mutilations réalisées avec les traitements anciens. La connaissance des techniques de chirurgie plastique permet de faire une exploration chirurgicale très complète sans laisser de séquelles morphologiques. Or ce type d'exploration est indiqué de plus en plus fréquemment pour des lésions découvertes à l'occasion d'un dépistage systématique.

La chirurgie curative comporte moins souvent l'indication d'une mastectomie. Lorsque celle-ci reste justifiée, il est licite de proposer une reconstruction mammaire immédiate. La mise en place d'une prothèse, ou d'un lambeau musculo-cutané au moment de la mastectomie, n'altère pas le pronostic comme nous avons pu le montrer à l'Institut Gustave-Roussy, grâce à une longue expérience de la reconstruction immédiate. Un recul de plus de 12 ans, après « exposition au silicone », n'a pas permis de mettre en évidence un eventuel effet nocif sur le plan carcinologique.

Aujourd'hui, la mastectomie peut être évitée dans plus de 50 % des cas.

Les premiers résultats esthétiques observés après traitement conservateur étaient relativement décevants mais l'utilisation des techniques de chirurgie plastique, pour faire une reconstruction glandulaire partielle, ont permis d'améliorer ces résultats. Aussi bien, la reconstruction totale immédiate que la reconstruction partielle, nécessitent une excellente coordination entre les équipes carcinologiques et plastiques ; au mieux, l'acquisition par le chirurgien d'une double compétence permet à la patiente de se confier totalement à lui en sachant qu'il ne négligera jamais le second domaine, quel que soit le premier objet de la consultation.

MOTS-CLÉS : TUMEUR SEIN, CHIRURGIE. MASTECTOMIE. CHIRURGIE PLASTIQUE

SUMMARY : *Role of the plastic surgery in the treatment of breast cancer*

The surgical treatment of breast cancer has changed dramatically since th last twenty years. Radical and super-radical mastectomy are almost no longe indicated except in certain cases of local recurrences. Breast saving procedure

are the best indication for small tumors. And the psychological impact of the different treatments including radiotherapy and chemotherapy is considered as an important issue. Therefore, plastic surgeons are more and more frequently called upon to restore the breast appearence using some technique of breast reconstruction or to improve the bad results of a conservative treatment. Moreover, a good knowledge of the plastic surgery techniques allows a better exploration of the breast and large resections in case of fibrocystic diseases with extensive foci of microcalcifications. Such extensive explorations of the breast are more frequently indicated with the developement of screening campaigns.

When the mastectomy remains the best indication, it is mandatory to propose an immediate breast reconstruction. Insertion of a silicone implant is discussed in several countries, especially in France, although more and more studies are showing the inocuity of such material. A long experience at the Gustave-Roussy Institute of such material used for breast reconstruction showed us the inocuity of long term silicone exposure in patients treated for breast cancer.

The conservative surgery should remove the tumor with a free margin of 1 to 2 or even 3 cm and the defect left is sometimes large enough to justify some local glandular mammoplasty in order to prevent from final mammary distorsion or local visible defect. Partial reconstructions could sometimes require more sophisticated techniques including musculo-cutaneous flaps or prosthesis implantation.

Finally the integration of the plastic surgery in the surgical protocols of breast cancer treatment, requires a close collaboration between the plastic and the cancer teams. In certain cases, a special surgical training provides the surgeon with a double competence in oncology and in plastic surgery. With such breast surgeon competent both in oncology and plastic surgery, a patient can ask for an aesthetic operation without missing a complete cancer screening as well as she can be treated for a cancer with the best chance to obtain the best cosmetic result.

KEY-WORDS (Index Medicus) : BREAST NEOPLASMS, SURGERY. MASTECTOMY. SURGERY, PLASTIC.

## BIBLIOGRAPHIE

[1] OSTEEN R.T. — Reconstruction after mastectomy. *Cancer Suppl.*, 1995, *76*, 10, 2070-2074.

[2] URBAN J.A, BAKER H.W. — Radical mastectomy in continuity with en bloc resection on the internal mammary lymph node chain. *Cancer*, 1982, *5*, 992.

[3] LACOUR J., LE M., VERONESI U., et *al* — Radical mastectomy versus radical mastectomy plus internal mammary dissection. Ten year results of an international cooperative trial in breast cancer. *Cancer*, 1983, *51*, 1941-1943.

[4] Baclesse F. — Roentgen therapy as the method of treatment of cancer of the breast. *Am. J. Roentgenol.*, 1949, *62*, 311-319.

[5] Sarrazin D., Le M., Rouesse J. et *al.* — Conservative treatment versus mastectomy in breast cancer tumors with microscopic diameter of 20mm or less, *Cancer*, 1984, *53*, 1209.

[6] Veronesi U., Saccozi R., Del Vecchio M. et *al.* — Comparing radical mastectomy with quadrantectomy, axillary dissection and radiotherapy of patients with operable breast cancer. *N. Eng. J. Med.*, 1981, *305*, 6-11.

[7] Fischer B., Bauer M., Margolese R. et *al.* — Five year results of a randomized clinical trial comparing total mastectomy and segmental mastectomy with or without radiation in the treatment of breast cancer. *N. Engl. J. Med.*, 1985, *312*, 665.

[8] Goldhirsch A., Gelber R.D., Castiglione M. et *al.* — Present and future projects of the International Breast Cancer Study Group. *Cancer*, suppl. Aug 1994, *74*, n° 3, 1139-1147.

[9] Lehmann A. — Incidences psychologiques de la chirurgie du sein. *in* Cancer du sein Medsi Mc Graw-Hill JY Petit, 1991, pp 160-174.

[10] Dufourmentel C. et *al.* — Reconstruction du sein après mastectomie pour cancer. *Chir.*, 1978, *104*, 638-650.

[11] Petit J.Y., Le M., Mouriesse H. — Breast augmentation and the risk of subsequent breast cancer (Letter). *N. Engl. J. Med*, 1983, *328*, 661.

[12] Petit J.Y., Le M., Mouriesse H., Rietjens M. et *al.* — Can breast reconstruction with gel-filled silicone implants increase the risk of death and second primary cancer in patients treated by mastectomy for breast cancer ? *Plast. Reconstr. Surg.*, 1994, *94*, 115.

[13] Gabriel S.E., O'Fallon W.M., Kurland L.T. et *al.* — Risk of connective tissue diseases and other disorders after breast implantation. *N. Engl. J. Med.*, 1994, *330*, 1697-1702.

[14] Sanchez-Guerrero J., Colditz G.A., Karlson E.W. et *al.* — Silicone breast implanrts and the risk of connective-tissue diseases and symptoms. *N. Engl. J. Med.*, 1995, *332*, 25.

[15] Gimenez-Gallago G., Cuevas P. — Fibroblast growth factors, proteins with broad spectrum of biological activities. *Neurol Res*, 1994, *16*, [4], 313-316.

[16] Petit J.Y. — Chirurgie conservatrice : *in* Cancer du sein, Medsi Mc Graw-Hill, 1991, 66-89.

[17] Petit J.Y. — Corrections des sequelles de traitement conservateur : *in* Cancer du sein, Medsi Mc Graw-Hill, 1991, 142.

## DISCUSSION

M. Claude Dufourmentel : 1) Si, comme vous l'avez montré, le traitement du cancer du sein doit être le fait d'une équipe, médecin cancérologue, chirurgien cancérologue, radiothérapeute, peut-être psychiatre, chirurgien plasticien, n'y a-t-il pas risque que la malade soit en équilibre instable entre ces différents spécialistes. Ne faut-il pas que l'un d'eux joue le rôle de chef de l'équipe et soit l'interlocuteur privilégié, celui qui suivra le traitement de bout en bout, et si cela est, lequel ? 2) Le double rôle de chirurgien cancérologue et

plasticien peut-il être rempli par le même praticien ? N'y a-t-il pas risque, qu'en fonction de sa formation initiale, il privilégie l'une ou l'autre des deux spécialités ?

M. Jean-Luc de GENNES : J'ai été intéressé par le moindre pourcentage de récidives du cancer du sein, après implantation de silicone dans la phase de réparation esthétique. Un point important serait de connaître s'il existe, à côté de la réaction fibroblastique secondaire, une réaction lymphocytaire (lymphocytes B et T). On vient de montrer, pour les cancers papillaires de la thyroïde, qu'une infiltration thyroïdienne dans la glande, par ces lymphocytes, diminuait très sérieusement les récidives.

M. Jean-Daniel PICARD : Je m'associe aux commentaires de M. Dufourmentel, en particulier ceux qui concernent la place essentielle de la chirurgie réparatrice dans le traitement du cancer du sein. J'aimerais poser une question et faire un commentaire : à propos de la mammectomie bilatérale prophylactique chez les femmes jeunes, je pense que, s'agissant d'une situation particulièrement délicate, il convient de l'aborder avec une grande prudence. Pouvez-vous nous préciser le nombre de cas que vous avez dû résoudre et le pourcentage de femmes jeunes, de 20 à 30 ans, qui ont accepté cette prévention. Le commentaire concerne le coût des plasties mammaires en cancérologie. Il faut opposer le coût en milieu hospitalier, qui n'entraîne aucun supplément pour les patientes, au coût en médecine privée. Dans cette deuxième éventualité, la chirurgie plastique est réalisée par des plasticiens et la dépense n'est prise que partiellement en charge par la Sécurité Sociale.

M. Louis AUQUIER : Y-a-t-il une explication, autre que celle proposée par Jean-Luc de Gennes, pour rendre compte des meilleurs résultats sur les récidives et les métastases constatées chez les patientes traitées par des implants de silicone ? Qu'en est-il des études comparatives effectuées récemment aux Etats-Unis sur le risque de maladies auto-immunes attribué aux silicones, risque qui ne semble pas se confirmer.

M. Maurice MERCADIER : Quel est le pourcentage précis des cancers du sein bilatéraux simultanés et/ou successifs ? Quel en est le retentissement sur le comportement thérapeutique et, en particulier, sur le comportement du chirurgien plasticien ?

M. PETIT : — à M. Dufourmentel :1) Vous pointez parfaitement la difficulté majeure du travail en équipe autour d'une malade qui recherche un interlocuteur en qui elle aura une confiance totale pour obtenir toutes les informations dont elle a besoin tout au long de son traitement. Le choix de cet interlocuteur peut faire intervenir une décision subjective, voire affective, et doit être laissé, selon moi, à la patiente. Au fil des consultations avec les membres de l'équipe carcinologique, elle peut choisir le spécialiste avec lequel elle se sent le plus à l'aise. Mais cela sous-entend que chaque spécialiste connaît les bases du traitement, y compris dans les domaines qui ne sont pas le sien. 2) Pour la

malade, il est probablement mieux, du point de vue psychologique, d'être opérée par un chirurgien qui connaît aussi bien la chirurgie cancérologique que la chirurgie plastique, et on pourrait envisager de créer une spécialité de chirurgie du sein donnant au chirurgien une formation approfondie en cancérologie et en chirurgie plastique. Les techniques de chirurgie plastique mammaire ne peuvent être bien réalisées que si l'on connaît parfaitement les bases de la chirurgie plastique, et je déconseille fortement à un chirurgien généraliste ou gynécologue de se lancer dans une intervention de reconstruction mammaire sans posséder parfaitement ces bases qui nécessitent plusieurs années de formation spécialisée.

— à M. de Gennes : Je vous remercie pour votre suggestion d'analyser plus en détail la nature histologique de la capsule péripothétique afin de rechercher la présence de cellules lymphocytaires, qui pourraient expliquer, comme dans le cas du cancer papillaire de la thyroïde, la rareté des récidives locales.

— à M. Picard : Je confirme l'extrême rareté des indications de mastectomie prophylactique dans mon équipe. Deux femmes ont subi cette opération, et dans les deux cas, la décision a été prise après plusieurs consultations et plusieurs mois de réflexion. La décision finale a été prise en tenant compte de la demande très forte des deux malades. Mais la découverte des marqueurs génétiques BRCA1 et 2 risque de faire croître la demande de la part des femmes à risque. Les résultats morphologiques, très moyens, des reconstructions mammaires après mastectomie prophylactique, associés aux problèmes psychologiques entraînés par la mutilation bilatérale chez une femme très jeune, doivent inciter à une extrême prudence dans ces indications et justifieront que les spécialistes (gynécologue, cancérologue, généticien, psychologue et plasticien), se réunissent pour échanger leurs points de vue et leurs expériences afin de définir une attitude raisonnable.

— à M. Auquier : 1) Nous n'avons pas pu mettre en évidence une cause expliquant les meilleurs résultats carcinologiques de la population de malades ayant eu une reconstruction mammaire avec prothèse de silicone. Il serait tentant d'évoquer l'hypothèse d'un effet bénéfique, sur l'évolution de la maladie, lié à l'amélioration psychologique consécutive à la reconstruction. Cette hypothèse n'a jamais pu être démontrée formellement, en raison de la complexité des réactions psychologiques observées. Il est plus vraisemblable que les résultats observés sont expliqués par un biais de sélection, malgré les efforts des statisticiens pour apparier les malades en fonction des critères carcinologiques les plus importants, car il s'agit d'une analyse rétrospective et non d'une étude prospective randomisée. 2) En ce qui concerne le risque de maladie auto-immune après implantation de prothèse de silicone, on peut rappeler les résultats des deux dernières grandes études épidémiologiques publiées dans *New England Journal of Medicine* [1, 2], qui n'ont pas été critiqués sur le plan statistique et qui confirment l'absence d'élévation du risque dans la population porteuse d'une prothèse.

— à M. Mercadier : Je confirme que le taux de cancers controlatéraux synchrones est de 1,6 % dans une étude de Gogas et coll. sur 1 332 femmes avec carcinome infiltrant du sein suivies 22 ans [1]. A l'Institut Gustave Roussy, une étude portant sur 1 271 patientes suivies au moins 10 ans, retrouve un taux de bilatéralisation de 4 % à un an et de 16 % à 10 ans. En cas de cancers bilatéraux simultanés, on peut proposer un traitement conservateur bilatéral si la patiente ne présente pas de contre-indication pulmonaire à une irradiation mammaire bilatérale. Dans le cas contraire, il vaut mieux proposer une mastectomie bilatérale avec, éventuellement, une reconstruction immédiate si la malade le souhaite.

1. *American Surgeon*, 1993, *59*, 733-735.

*Bull. Acad. Natle. Méd.*, 1996, *180*, n° 2, 333-359, séance du 6 février 1996

**RAPPORT**

*au nom de la Commission XI (Climatisme — Thermalisme — Eaux minérales)*

# Sur la demande d'autorisation de transporter à distance l'eau des captages Pavillon et Légère, et d'exploiter à l'émergence et après transport à distance l'eau des captages Great-Source et Thierry-Lorraine, situés à Contrexéville (Vosges)

Pierre DESGREZ

Par lettre en date du 7 novembre 1995, le ministre de la Santé publique et de l'Assurance maladie, sous-direction de la Veille sanitaire, sollicite l'avis de l'Académie nationale de médecine sur la demande d'autorisation de transporter à distance l'eau des captages Pavillon et Légère, et d'exploiter à l'émergence et après transport à distance l'eau des captages Great-Source et Thierry-Lorraine, situés à Contrexéville (Vosges).

Cette demande est présentée par le Directeur général de la Générale de Grandes Sources.

La source Pavillon a été déclarée d'intérêt public le 4 août 1860 et protégée par un périmètre de protection, depuis le 20 juin 1861.

Son débit est fixé à 36 $m^3$/h.

La Société demande le renouvellement de l'autorisation d'exploiter cette source à distance de son point d'émergence, autorisation accordée, précédemment, le 10 septembre 1962 pour une durée de trente ans après avis favorable de l'Académie de médecine.

A partir de ce captage, bien protégé, l'eau est acheminée, par l'intermédiaire d'une canalisation d'une longueur de 2 200 m, vers l'usine d'embouteillage où elle est stockée dans un réservoir avant sa distribution vers les chaînes d'embouteillage et l'Etablissement thermal.

Le maintien de la bonne qualité de l'eau, tant du point de vue bactériologique que du point de vue physico-chimique, a été constaté par le Laboratoire d'Hygiène et de Recherche en Santé publique de Vandœuvre-les-Nancy.

Ces analyses ont montré qu'entre 1961 et 1993 le taux du magnésium, présent dans l'eau, était passé de 48 mg à 83 mg/l.

De ce fait, la DRIRE a demandé que « l'exploitant soit tenu d'assurer une surveillance du fonctionnement du captage qui doit porter sur la hauteur de l'eau dans l'ouvrage, la pression, le débit et la qualité de l'eau. Toute variation importante devra être signalée aux services mandatés pour la surveillance des eaux minérales ».

Les analyses réglementaires, effectuées par le Laboratoire national des Etudes hydrologiques et thermales du ministère de la Santé, ont confirmé qu'il s'agit d'une eau froide, de bonne qualité bactériologique. Sur le plan physico-chimique, c'est une eau sulfatée calcique et magnésienne, le résidu sec est de 1 863 mg/l avec 1 142 mg/l de sulfates, 452 mg/l de calcium et 83,7 mg/l de magnésium. Les analyses des échantillons prélevés à l'émergence, après transport, stockage et embouteillage ne montrent aucune modification de la qualité des eaux.

La source Légère a fait l'objet d'une autorisation ministérielle d'exploitation à l'émergence, sans limitation de durée, en date du 29 septembre 1882, et d'une autorisation d'exploitation à distance, par arrêté du 10 septembre 1962, après avis favorable de l'Académie de médecine. Le renouvellement de cette dernière est sollicité par la présente demande.

Le captage est situé dans le périmètre de protection des sources minérales de Contrexéville. Le débit est, en moyenne, de 23 $m^3/h$.

Une canalisation de 2 350 m conduit l'eau jusqu'à l'usine d'embouteillage où elle est stockée dans un réservoir avant d'être distribuée vers les chaînes d'embouteillage et l'Etablissement thermal.

Des prélèvements et des analyses ont été effectués par le Laboratoire d'Hygiène et de Recherche en Santé publique de Vandœuvre-les-Nancy. Ces dernières ont montré qu'à l'émergence, aussi bien qu'à l'entrée du réservoir général de l'usine, l'eau de la source Légère conservait ses bonnes qualités bactériologiques et ne présentait aucune modification notable de sa composition physico-chimique.

La modification du taux de magnésium, qui en trente ans est passé de 37 mg/l à 109 mg/l, a amené, ici encore, les administrations locales à demander à l'exploitant « d'assurer une surveillance du fonctionnement du captage et de communiquer, aux services concernés, toute variation importante dans les éléments contrôlés ».

Les analyses réglementaires, effectuées par le Laboratoire des Etudes hydrologiques et thermales du ministère de la Santé, ont confirmé qu'il s'agit d'une eau froide, assez fortement minéralisée, de bonne qualité bactériologique.

Sur le plan physico-chimique, c'est une eau sulfatée calcique et magnésienne avec un résidu sec de 1 939 mg/l, 1 120 mg/l de sulfate, 450 mg/l de calcium et 87 mg/l de magnésium.

Les analyses, réalisées à l'émergence et après transport, ne montrent aucune modification des différents éléments étudiés.

On observe, ici encore, qu'entre 1961 et 1994 le taux du magnésium est passé de 48 mg/l à 87 mg/l.

La source Great-Source a fait l'objet d'une autorisation d'exploitation à l'émergence, le 31 juillet 1906, renouvelée le 12 juin 1954 pour trente ans, et d'une autorisation d'exploitation à distance, le 10 septembre 1962, pour le même laps de temps.

L'exploitant sollicite leur renouvellement.

La profondeur du forage est de 47 m. Sa base a été remise en état en mai 1991.

La tête du captage est située dans une construction maçonnée, incluse dans le périmètre de protection des eaux minérales pris par décret d'extension du 26 juillet 1957.

Le forage est bien protégé, en particulier par un tubage externe qui entoure le tubage interne et qui empêche d'éventuelles infiltrations des eaux superficielles. Il est à noter que la DRIRE propose un élargissement du périmètre sanitaire d'émergence.

Une canalisation de 1 750 m conduit l'eau de la source vers des réservoirs de stockage, situés à l'usine d'embouteillage, et vers l'Etablissement thermal.

Les analyses, réalisées le 9 février 1993 par le Laboratoire d'Hygiène et de Recherche en Santé publique de Vandœuvre-les-Nancy, concluent à une bonne qualité bactériologique de l'eau. Du point de vue physico-chimique, c'est une eau froide, sulfatée calcique et légèrement magnésienne, dont la qualité se conserve lors du transport jusqu'à l'usine.

Les analyses réglementaires, effectuées par le Laboratoire national des Etudes hydrologiques et thermales du ministère de la Santé, ont confirmé qu'il s'agit d'une eau de bonne qualité bactériologique.

Sur le plan physico-chimique, c'est une eau froide assez fortement minéralisée avec un résidu sec de 2 080 mg/l, 515 mg/l de calcium, 64 mg/l de magnésium et 1 207 mg/l de sulfates. Cette composition se rapproche de celle des sources Légère et Pavillon. Elles se rangent, toutes les trois, dans la catégorie des eaux caractéristiques de Contrexéville.

Les analyses réglementaires du Laboratoire national des Etudes hydrologiques et thermales du ministère de la santé, faites sur des prélèvements effectués à sept mois d'intervalle, montrent une bonne qualité bactériologique et une constance de composition chimique.

Ces résultats sont confirmés à tous les niveaux des différents prélèvements.

La source Thierry-Lorraine est nouvelle, non encore exploitée. Son captage a été réalisé en 1964, à une profondeur de 25 m. Sa tête est située dans un

bâtiment maçonné, de quatre mètres de diamètre, construit dans un enclos grillagé de 1,4 ha, propriété de la Générale de Grandes Sources. Elle est équipée d'un manomètre et d'un robinet de prélèvement et reliée à la canalisation de transport.

Son débit horaire prévu est de 30 $m^3/h$.

Une influence de la mise en service de ce captage ayant été constatée sur le débit de la source Pompilius voisine, il est indispensable qu'elles ne soient pas exploitées simultanément.

L'usine d'embouteillage, où l'eau arrive dans une cuve de stockage de 1 000 $m^3$ d'où elle sera répartie vers les chaînes d'embouteillage, est située à 3,1 km de la source.

La qualité de l'eau de cette source, tant du point de vue bactériologique que du point de vue physico-chimique, a été contrôlée par le Laboratoire d'Hygiène et de Recherche en Santé publique de Vandœuvre-les-Nancy, le 21 juillet 1993. Les résultats, consécutifs aux prélèvements effectués, se sont montrés satisfaisants.

La DRIRE demande, dans son rapport, que soit installé un certain nombre d'appareils classiques permettant de suivre et de surveiller les principales caractéristiques de l'eau captée.

Les mesures radioactinologiques permettent de conclure que l'emploi de cette eau peut être envisagé sans restriction pour usage interne et externe.

Les prélèvements pour analyses réglementaires ont été effectués par le Laboratoire national des Etudes hydrologiques et thermales du ministère de la Santé, le 27 septembre 1994 à l'émergence, après transport et stockage et le 4 avril 1995, à l'émergence.

Les examens bactériologiques ont montré qu'il s'agit d'une eau très pure dont le stockage n'altère pas les qualités.

Les analyses physico-chimiques permettent de conclure qu'il s'agit, ici encore, d'une eau froide, sulfatée calcique et magnésienne. Mais, si le schéma général de la nature des éléments minéraux rappelle celui des eaux des sources précédentes, leur rapport présente une certaine différence. L'extrait sec s'élève à 2,4 g/l, soit une minéralisation supérieure de 20 %. La teneur en chlorures est plus élevée, 17 mg/l contre une moyenne de 8 mg/l pour les trois autres sources.

L'avis du Pr Boulangé qui dirige, à la Faculté de médecine de Nancy, le Service d'Hydrologie et de Climatologie thérapeutique et qui connaît particulièrement bien le thermalisme lorrain, figure sous forme de rapport dans le dossier. Ses conclusions sont les suivantes : « Il peut donc être avancé, au vu des résultats des analyses qui nous ont été communiqués, que les sources nouvelles Thierry-Lorraine et Belle Lorraine présentent, *a priori*, le même intérêt

dans le domaine du traitement des maladies métaboliques que les eaux de sources Reine Lorraine et Great-Source, déjà agréées et utilisées ».

Les demandes présentées ont reçu un avis favorable de la DRIRE (le 16 avril 1993 pour Pavillon, Légère et Great-Source, les 1er juin et 25 octobre 1993 pour Thierry Lorraine), de la DDASS (le 28 mai 1993 pour Pavillon, Légère et Great-Source, le 30 juin 1994 pour Thierry-Lorraine) et du Conseil départemental d'Hygiène (le 11 juin 1993 pour Pavillon, Légère et Great-Source, le 7 juillet 1994 pour Thierry-Lorraine).

La Commission XI, réunie le 23 janvier 1996 sous la présidence du Pr Pierre Desgrez, propose à l'Académie d'émettre un avis favorable à la demande d'autorisation d'exploiter, à l'émergence et après transport à distance, l'eau des sources Great-Source et Thierry-Lorraine, et après transport à distance l'eau des sources Pavillon et Légère, situées à Contrexéville (Vosges). L'augmentation du taux du magnésium, observée dans la composition minérale de ces deux dernières, ne saurait nuire à leurs propriétés pharmacologiques. Cependant, il est nécessaire que les prescriptions de contrôle demandées par la DRIRE soient strictement observées.

*
* *

L'Académie, saisie dans sa séance du mardi 6 février 1996, a adopté ce rapport.

Mots-clés : Eau minéralisée. Contrexéville (Vosges). Sources Pavillon, Légère, Great-Source, Thierry-Lorraine.

Key-words (Index Medicus) : Mineral waters. France.

*Bull. Acad. Natle. Méd.*, 1996, *180*, n° 2, 333-359, séance du 6 février 1996

# RAPPORT * DU LABORATOIRE NATIONAL DES ÉTUDES HYDROLOGIQUES ET THERMALES (MINISTÈRE DE LA SANTÉ PUBLIQUE ET DE L'ASSURANCE MALADIE)

Georges POPOFF **

Par pétitions en date des 2 juin et 22 décembre 1992, M. J. Brod, Directeur Général de la Générale de Grandes Sources, sollicite l'autorisation de transporter à distance jusqu'à l'usine d'embouteillage, l'eau minérale naturelle des sources Pavillon et Légère, et d'exploiter à l'émergence et après transport à distance, l'eau des sources Great-Source et Thierry-Lorraine, situées à Contrexéville (Vosges).

Ces demandes sont présentées en application du décret du 28 mars 1957 portant règlement d'administration publique sur la police et la surveillance des eaux minérales et du décret du 6 juin 1989 relatif aux eaux minérales et eaux potables préemballées.

## Historique

L'histoire du thermalisme de Contrexéville (Vosges) est étroitement liée à celle de ses sources et débuta au milieu du XVIII[e] siècle lorsque le docteur Bagard, médecin de Stanislas Leszczinski, ancien roi de Pologne et beau-père de Louis XV, se rendit à Contrexéville à la demande du roi pour étudier ses sources.

Ses observations furent consignées dans le *Mémoire sur les Eaux Minérales de Contrexéville dans le Bailliage de Darney en Lorraine* dont la lecture, en séance publique de la Société Royale des Sciences et des Arts le 10 janvier 1760, provoqua un tel afflux de malades venus « prendre les eaux » à la source du Pavillon qu'on dut la protéger d'un mur et d'une toiture.

Jusqu'en 1776 les résultats spectaculaires obtenus sur les malades, pour « diviser la pierre dans la vessie et d'en évacuer les graviers » [1], contribuèrent à asseoir la notoriété de Contrexéville dans le royaume tout entier [2]. Tant et

---

* En date du 27 octobre 1995.

** Directeur.

1. D'après le docteur Bagard, déjà cité.
2. Ne parle-t-on pas d'*Aquae Contrexevillanae* en 1765 !

si bien que l'Inspecteur Général des Eaux Minérales Françaises dépêcha, à Contrexéville, le docteur Thouvenel, médecin de Louis XVI et de la Cour de Versailles. Son enthousiasme fut tel, qu'il fit construire le premier établissement thermal. La station de Contrexéville était véritablement née.

Après une période de déclin, pendant la Révolution puis l'Empire, la station n'en continua pas moins d'attirer les malades : de nombreux médecins, notamment le docteur Mamelet, ancien médecin des armées de Napoléon 1er, s'intéressèrent aux propriétés des eaux minérales. Le Second Empire consacra la station comme tant d'autres en France ; des personnalités aussi prestigieuses que le Shah de Perse, la reine Isabelle d'Espagne ou le roi de Serbie fréquentèrent les thermes dont les installations et la Galerie Thermale avaient été entièrement reconstruites.

La renommée des eaux de Contrexéville était telle que les cures de boisson représentaient une consommation de 6 000 à 8 000 verres d'eau, soit une moyenne de 40 verres par minute. De là naquit l'organisation de la distribution à distance de l'eau. Cette vente existait au XVIIIe siècle, comme le rapportait déjà le docteur Bagard, mais elle fut étendue au cours du Second Empire puisque l'on distribuait même des bonbonnes d'eau minérale à Paris. Le véritable embouteillage vit le jour, au début de ce siècle, dans un local situé à proximité de la source du Pavillon. Cette activité demeura longtemps artisanale jusqu'à sa reprise par la société Perrier, en 1954, qui la transforma en exploitation industrielle et hissa Contrexéville au premier rang des eaux minérales françaises. Après une période de forte expansion, qui vit notamment son rachat par Nestlé en 1992, la production de l'usine atteignit 800 millions de litres par an en 1994.

Contrexéville est aussi et avant tout, même si sa fréquentation demeure modeste avec 1 001 curistes en 1994, une station thermale spécialisée dans le traitement des affections de l'appareil urinaire, digestif et des maladies métaboliques. Pour les besoins de la cure, comme pour l'embouteillage, la station exploite plusieurs eaux minérales reconnues dans le passé, dont la plus prestigieuse demeure la source Pavillon. Les ressources demeuraient toutefois insuffisantes pour assurer une exploitation dans des conditions satisfaisantes : l'exploitant a donc cherché à diversifier sa ressource pour ne pas solliciter davantage la source du Pavillon et déséquilibrer le gisement. Plusieurs forages, réalisés dans le secteur, ont donné des eaux de même famille susceptibles d'être exploitées. Tel est le sens de ce dossier regroupant les demandes distinctes des forages Great-Source et Thierry-Lorraine. Dans le même temps, l'exploitant renouvelait les demandes d'exploitation, après transport à distance jusqu'à l'usine d'embouteillage, de l'eau des sources Pavillon et Légère qui bénéficient d'une autorisation permanente accordée au siècle dernier.

L'établissement thermal ayant été entièrement rénové au printemps 1995, nous examinerons, dans une seconde phase, la régularisation de sa situation administrative.

*Bull. Acad. Natle. Méd.*, 1996, *180*, n° 2, 333-359, séance du 6 février 1996

La source Pavillon

La source Pavillon est exploitée à Contrexéville depuis plus de deux siècles. Elle a été déclarée d'intérêt public le 4 août 1860 et protégée par un périmètre de protection le 20 juin 1861, étendu le 2 mars 1885 et pour la dernière fois le 26 juillet 1957 [1], couvrant une surface totale de 1 280 hectares.

Elle a, également, fait l'objet d'une autorisation ministérielle d'exploitation à distance en date du 10 septembre 1962 [2], pour une durée de 30 ans qui est arrivée à son terme. L'exploitant sollicite, à ce titre, le renouvellement de cette autorisation.

*Le captage*

La source Pavillon est située dans la parcelle cadastrée section AY n° 1 de la commune de Contrexéville, à l'intérieur de la Rotonde de la Galerie Thermale, avenue du Shah de Perse.

Ses coordonnées Lambert sont les suivantes :

X = 864,52 Y = 59,65 Z = 335,95 NGF

Le captage puise l'eau dans la nappe du Muschelkalk supérieur par un forage tubé de 80 cm de diamètre et d'une profondeur de 4 m, qui se prolonge dans les calcaires à entroques par une buse d'une profondeur de 0,56 m.

L'eau sourd en fond de cette buse ainsi que par des drains disposés en étoile entre celle-ci et le tube du forage, selon un dispositif de type CUAU mis en place en 1947.

Le débit retenu pour la source a été fixé à 36 $m^3/h$.

*Périmètre sanitaire de la source*

Le captage est situé au centre de la Rotonde de la Galerie Thermale dont le rayon mesure 12 m. L'exploitant en est propriétaire ainsi que des terrains alentours, notamment le Parc Thermal, sur une distance minimale de 50 m de tous côtés. La Rotonde peut donc être considérée comme le périmètre sanitaire d'émergence. Il est à noter que le Parc Thermal se trouve, lui-même, inclus dans le périmètre de protection de la source Pavillon et bénéficie de toutes les protections prévues par le code de la Santé Publique.

1. Après avis de l'Académie de médecine, le 2 juillet 1957.
2. Après avis favorable de l'Académie de médecine, le 19 juin 1962.

*Transport jusqu'à l'usine d'embouteillage et stockage*

L'eau est acheminée par une canalisation de 60 cm de long jusqu'à la station de pompage permettant son acheminement jusqu'à l'usine d'embouteillage. Le débit de la pompe est variable, entre 10,5 et 40 $m^3$/h. Il est réglé par l'intermédiaire d'un variateur de fréquence. L'aspiration et le refoulement sont constitués par des tubes de 100 mm de diamètre, en acier inoxydable.

L'installation de transport vers l'usine d'embouteillage, d'une longueur totale de 2 200 m, comprend :

— une canalisation en acier inoxydable de 100 mm de diamètre depuis la pompe jusqu'au regard de sortie de la salle des pompes ;

— une conduite en PVC pression de 10 bars, de qualité alimentaire et de 98,8/110 mm de diamètre, jusqu'à l'usine.

La conduite est posée dans une tranchée remblayée à 1,40 m de profondeur. Les traversées des routes, CD 164, CD 13 D, CD 429 et de la voie ferrée Nancy-Merrey ont nécessité des aménagements spéciaux pour sa protection.

L'arrivée à l'embouteillage se fait dans le bâtiment abritant les réservoirs de stockage et les dispositifs de répartition vers les chaînes d'embouteillage. Ces réservoirs de 100 $m^3$, au nombre de 45, représentent une capacité de stockage de 4 500 $m^3$.

*Protection des installations de transport*

L'exploitant est propriétaire de la majeure partie des terrains traversés par la conduite, à savoir l'ensemble du Parc Thermal et l'usine d'embouteillage. Il a, en outre, obtenu des autres propriétaires (particuliers, DDE, SNCF) les autorisations de passage et d'intervention sur les ouvrages de transport, en cas de nécessité.

## La source Légère

La source Légère est exploitée à Contrexéville depuis de nombreuses années. Elle a fait l'objet d'une autorisation ministérielle d'exploitation à l'émergence le 29 septembre 1882 [1], sans limitation de durée, sous la dénomination de source Le Cler. Par arrêté ministériel du 19 mars 1958, elle a changé de dénomination et s'appelle depuis source Légère.

Elle est incluse dans le périmètre de protection des sources Pavillon, Quai et Prince depuis le décret d'extension du 2 mars 1885.

Utilisée après transport, elle a fait l'objet, comme la source Pavillon, d'une autorisation ministérielle d'exploitation à distance, en date du 10 septembre

1. Après avis favorable de l'Académie de médecine, le 5 septembre 1882.

1962 [1], pour une durée de 30 ans et se trouve, elle aussi, caduque. C'est donc à ce titre que l'exploitant sollicite le renouvellement de cette autorisation.

*Le captage*

La source Légère est située dans la parcelle cadastrée section AY n° 247 de la commune de Contrexéville, avenue du Shah de Perse.

Ses coordonnées Lambert sont les suivantes :

X = 864,62 Y = 59,57 Z = 336,430 NGF

Le captage puise l'eau dans la nappe du Muschelkalk Supérieur par l'intermédiaire d'un forage tubé, réalisé vers 1880, d'une longueur de 4,9 m prolongé par un trou de sonde de 4,9 m. La profondeur totale ainsi atteinte est de 9,8 m.

Le débit retenu pour la source a été fixé à 23 $m^3/h$.

La tête de captage se situe dans un local fermé à clef, abritant également la pompe permettant l'acheminement de l'eau minérale jusqu'à l'usine d'embouteillage.

*Périmètre sanitaire de la source*

Le captage est situé dans un bâtiment clos, lui-même entouré d'une zone pavée équivalant à un cercle de 10 m autour de l'émergence, propriété de l'exploitant. Cette zone constitue le périmètre sanitaire d'émergence.

Sur le parc de stationnement adjacent, propriété de la ville de Contrexéville, il existe une servitude amiable entre la ville et l'exploitant de la source ; son revêtement d'enrobé lui assure une certaine imperméabilité à d'éventuels écoulements d'hydro-carbures.

*Transport jusqu'à l'usine d'embouteillage et stockage*

La pompe peut débiter entre 10,5 et 40 $m^3/h$ par l'intermédiaire d'un variateur de fréquence. L'aspiration et le refoulement sont constitués par des tubes de 100 mm de diamètre en acier inoxydable.

L'installation de transport vers l'usine d'embouteillage, d'une longueur totale de 2 350 m, comprend :

— une canalisation en acier inoxydable de 100 mm de diamètre depuis la pompe jusqu'au regard de sortie du bâtiment abritant l'émergence ;

— une conduite en PVC pression de 10 bars, de qualité alimentaire et de 98,8/110 mm de diamètre, jusqu'à l'usine.

1. Après avis favorable de l'Académie de médecine, le 19 juin 1962.

La conduite est posée au fond d'une tranchée remblayée, à 1,40 m de profondeur. Les traversées des routes, CD 164, CD 13 D, CD 429 et de la voie ferrée Nancy-Merrey ont nécessité des aménagements spéciaux, pour sa protection.

L'arrivée à l'embouteillage se fait dans le bâtiment abritant les réservoirs de stockage (un réservoir de stockage de 100 $m^3$ est destiné au stockage de l'eau de la source Légère) et les dispositifs de répartition vers les chaînes d'embouteillage.

*Protection des installations de transport*

L'exploitant est propriétaire de la majeure partie des terrains traversés par la conduite, à savoir l'ensemble du Parc Thermal et l'usine d'embouteillage. Il a, en outre, obtenu des autres propriétaires (particuliers, DDE, SNCF) les autorisations de passage et d'intervention sur les ouvrages de transport, en cas de nécessité.

La source Great-Source

La Source Great-Source est exploitée à Contrexéville depuis le début du siècle : l'autorisation d'exploitation initiale date du 31 juillet 1906. Elle fut renouvelée le 12 juin 1954 tandis qu'était accordée l'autorisation de transport à distance, le 10 septembre 1962 [1].

La présente demande vise à obtenir un renouvellement de cette autorisation. La source Great-Source est incluse dans le périmètre de protection des sources Pavillon, Quai et Prince, depuis le décret d'extension du 26 juillet 1957.

*Le captage*

Il est situé sur le territoire de la commune de Contrexéville, à l'angle de l'avenue de la Division Leclerc et de la rue Ernest Daudet, à 10 m du ruisseau le Vair, dans la parcelle cadastrée section BS n° 121.

Ses coordonnées Lambert sont les suivantes :

X = 864,46 Y = 60,18 Z = 333,775 NGF

Le forage, qui exploite la nappe des calcaires à Entroques et des couches blanches située à la base du Keuper et du Muschelkalk moyen et supérieur, traverse les couches géologiques suivantes :

1. Après avis favorables de l'Académie de médecine, les 10 juillet 1906, 1er février 1949 et 19 juin 1962.

— de 0 à 5,5 m : alluvions + marnes ;
— de 5,5 m à 21,5 m : marnes et calcaires à Cératites ;
— de 21,5 m à 39 m : calcaires à Entroques ;
— de 39 à 47 m : Muschelkalk moyen ;
— de 39 à 46 m : couches blanches (Dolomies) ;
— de 46 à 47 m : couches grises (marnes à gypse).

La profondeur initiale du forage Great-Source de 1906 était de 40,8 m. Un approfondissement, non tubé jusqu'à une profondeur de 59,60 m, avait été réalisé en 1955, sans succès d'ailleurs puisque, à partir de 1988, le vieillissement de l'ouvrage aboutit à son colmatage. Le recaptage de la source consista à implanter un nouveau forage à un mètre de l'ancien ouvrage. Constitué de tubes concentriques descendant à 47 m, dont les espaces annulaires sont entièrement cimentés, il se trouve équipé de la façon suivante :

— de 0 à 8,50 m : tube acier inoxydable de 400 mm de diamètre intérieur, cimenté à l'extrados ;

— de 0 à 25 m : tube acier inoxydable de 298 mm de diamètre intérieur, cimenté à l'extrados ;

— de 23 à 47 m : tube acier inoxydable de 200 mm de diamètre intérieur, crépiné de 26 à 46 m en colonne perdue.

Le captage, artésien, débite 8,7 $m^3/h$, mais une pompe a cependant été mise en place pour augmenter le débit d'exploitation qui, après un pompage d'essai, a été fixé à 33 $m^3/h$.

La tête du captage est située dans une construction maçonnée, abritant également la pompe permettant l'acheminement de l'eau jusqu'à l'usine d'embouteillage.

*Périmètre sanitaire du forage*

Le captage est situé dans un bâtiment clos, lui-même implanté dans une parcelle, propriété de l'exploitant, dont les limites se trouvent à plus de 10 m de l'émergence.

Parmi les autres mesures qui assurent une bonne protection sanitaire du forage, on peut citer le tubage externe de 400 mm de diamètre qui entoure le tubage interne sur 8,50 m au cours de la traversée des alluvions et des couches supérieures du Muschelkalk supérieur, empêchant d'éventuelles infiltrations des eaux superficielles et, en particulier, des eaux de la nappe alluviale du Vair.

Compte tenu de ce qui précède, le périmètre sanitaire d'émergence a été défini par un rectangle entourant le captage, dont les trois côtés est, nord et ouest sont situés à une distance de 10 m du captage proprement dit, et dont le côté sud est situé à 8 m du captage, soit à la limite de la maison du personnel.

Le captage est, par ailleurs, inclus dans le périmètre de protection des sources Pavillon, Quai et Prince.

*Transport jusqu'à l'usine d'embouteillage et stockage*

La pompe permet un débit de 10,5 à 40 $m^3/h$ par l'intermédiaire d'un variateur de fréquence. L'aspiration et le refoulement sont effectués par des tubes de 100 mm de diamètre en acier inoxydable.

L'installation de transport vers l'usine d'embouteillage, d'une longueur totale de 1 750 m, comprend :

— une canalisation en acier inoxydable de 100 mm de diamètre entre la pompe et le regard de sortie du bâtiment abritant l'émergence ;

— une conduite en PVC pression de 10 bars, de qualité alimentaire et de 98,8/110 mm de diamètre, jusqu'à l'usine.

La conduite est posée au fond d'une tranchée remblayée, à 1,40 m de profondeur. Les traversées des routes, CD 164, CD 13 D, CD 429 et de la voie ferrée Nancy-Merrey ont nécessité des aménagements spéciaux pour sa protection.

L'arrivée à l'embouteillage se fait dans le bâtiment abritant les réservoirs de stockage (2 réservoirs de 100 $m^3$ chacun) et les dispositifs de répartition vers les chaînes d'embouteillage.

*Protection des installations de transport*

L'exploitant est propriétaire de la majeure partie des terrains traversés par la conduite, à savoir l'ensemble du Parc Thermal et l'usine d'embouteillage. Il a, en outre, obtenu des autres propriétaires (particuliers, DDE, SNCF) les autorisations de passage et d'intervention sur les ouvrages de transport, en cas de nécessité.

La source Thierry-Lorraine

L'exploitant sollicite, dans un premier temps, la reconnaissance en eau minérale de la source Thierry-Lorraine dont les caractéristiques sont proches de celles des eaux de Contrexéville, dans le but de disposer d'une ressource supplémentaire en eau minérale. Une demande d'autorisation de mélange, avec les autres sources, est prévue et sera instruite ultérieurement.

*Hydrogéologie de la source*

La Source Thierry-Lorraine est située au cœur des affleurements triasiques du Keuper Inférieur s'étendant au nord et à l'est d'Outrancourt. Cette forma-

tion est représentée par des marnes irisées renfermant des évaporites ; son épaisseur varie entre 15 et 20 m au niveau de la vallée du Vair où est située la source.

Elle surmonte les horizons :

— de la Lettenkohle (dolomie à évaporites, marnes dolomitiques schistosées) ;

— du Muschelkalk Supérieur (dolomie, calcaires à cératites, calcaires à entroques) ;

— du Muschelkalk Moyen (couches blanches de dolomie, couches grises, couches rouges de marnes à dolomie et gypse) ;

— du Muschelkalk Inférieur (lits gréseux rouges et argile sableuse) ;

— du Grès du Trias Inférieur ;

— du Permien argilo-gréseux ;

— un substratum cristallin granitique.

Les divers horizons triasiques surmontant les Grès du Trias Inférieur sont d'origine marine et lagunaire et renferment les sédiments et précipitations caractéristiques de ce type de milieu : évaporites, dolomies, calcaires ainsi que dépôts d'origine terrigène.

Le bassin de Contrexéville comporte plusieurs niveaux aquifères superposés :

— celui du gîte hydrominéral de Contrexéville, comprenant plusieurs niveaux individualisés, notamment une nappe sous-jacente aux formations alluvionnaires dans le Keuper Inférieur, une nappe dans la dolomie blanc-crème du Muschelkalk Supérieur ainsi qu'une nappe dans les couches à entroques du Muschelkalk Supérieur ;

— l'aquifère des Grès du Trias Inférieur.

Le captage de Thierry-Lorraine est destiné à capter des eaux de l'aquifère de la zone altérée de la base du Keuper dite « zone des graviers ».

*Le captage*

Il est situé au nord de l'agglomération d'Outrancourt, dans la vallée du Vair, au lieu-dit Les Aulnoy, sur une parcelle cadastrée section AO n° 29 de la commune de Contrexéville, en limite de la commune de Norroy-sur-Vair. Sur la même parcelle se situe également le forage de la source d'eau minérale Reine-Lorraine, autorisée par arrêté ministériel du 22 juillet 1965.

Ses coordonnées Lambert sont les suivantes :

X = 864,675 Y = 1062,32 Z = 325,93 NGF

Il se situe en dehors du périmètre de protection des eaux minérales de Contrexéville et Vittel. Sur la parcelle adjacente, de l'autre côté du ruisseau de la Fontaine des Aulnoy formant la limite des deux communes, est implanté un

second forage, dit Pompilius, pour lequel une demande d'autorisation d'exploiter est également en cours d'instruction, mais suspendue actuellement dans l'attente d'améliorer sa connaissance.

Il a été foré en 1964 et les couches géologiques suivantes ont été rencontrées :

— de 0,30 à 9 m : des alluvions du Vair comprenant des argiles, limons, cailloutis et galets ;

— de 9 m à 25,15 m : Keuper inférieur comprenant :

• de 9 à 14 m : des Schistes sains avec argile et intercalations de débris de gypses ;

• de 14 à 24 m : des Schistes gris plus ou moins désagrégés, il s'agit de la zone des graviers ;

• de 24 à 25,15 m : des Schistes sains avec débris gypseux.

L'aquifère capté se situe sous les alluvions du Vair, entre 14 et 24 m, dans la zone des graviers.

Le niveau statique de la nappe s'établit à 0,9 m, elle est donc en charge sous les formations qui la surmontent.

Le captage puise l'eau par l'intermédiaire d'un forage tubé descendant à 25,15 m et équipé de la façon suivante :

— de 0 à 8,30 m : tubage plein, en acier ordinaire de 400 mm de diamètre ;

— de + 0,53 à 25,15 m : tubage en acier inoxydable de 300 mm de diamètre, plein de 8,30 m à 17 m, crépiné de 17 m à 23 m et de nouveau plein de 23 m à 25,15 m, présentant les remblaiements à l'extrados suivants :

• de 0 à 8,30 m : cimentation de l'espace annulaire entre les tubes ;

• de 8,30 à 14,70 m : cimentation de l'espace annulaire entre le tube de 3 mm et la périphérie de l'excavation ;

• de 14,70 à 14,87 m : bouchon d'argile dans l'espace annulaire ;

• de 14,87 à 15,50 m : bouchon de sable dans l'espace annulaire ;

• de 15,50 à 23,75 m : remplissage de gravier siliceux roulé ;

— de 23,75 à 25,15 m : bouchon de fond en ciment.

Le captage est équipé d'une pompe immergée munie d'un variateur de débit.

Les essais de pompage ont montré une interaction sensible entre ce captage et celui dit Pompilius, situé à 20 m de distance. Cette interaction n'est pas rédhibitoire à condition de renoncer à exploiter simultanément l'eau des 2 captages et de maintenir le niveau de rabattement de Thierry-Lorraine, à moins de 5 m par rapport à la surface du sol, ce qui limite son débit à 30 $m^3/h$ [1].

Le débit d'exploitation a donc été fixé à 30 $m^3/h$.

1. L'exploitant a pris acte de la nature des interactions et ne souhaite pas, de ce fait, poursuivre l'instruction de la demande concernant le captage Pompilius (lettre de la GGS au Préfet des Vosges datée du 15 décembre 1994).

La tête de captage est située dans un bâtiment maçonné de 4 m de diamètre ; elle est équipée d'un manomètre, d'un robinet de prélèvement et d'une vanne de sectionnement. Elle est reliée à la canalisation de transport. L'ouvrage est, quant à lui, conçu de façon à offrir toutes les garanties contre les infiltrations provenant de la surface.

*Périmètre sanitaire du forage*

Le captage Thierry-Lorraine se situe dans un bâtiment maçonné d'une surface de 9 $m^2$ implanté dans un terrain clos, d'une superficie de 1,4 ha, propriété de l'exploitant.

Les abords de ce terrain sont constitués de prairies et de bois et les habitations les plus proches appartiennent au hameau d'Outrancourt, à 1 km.

L'aquifère capté est recouvert par des terrains argileux peu perméables, d'une épaisseur de 14 m. Par ailleurs, la nappe est en charge ce qui démontre l'absence de relation hydraulique avec d'éventuels aquifères plus superficiels.

Compte tenu de ces éléments, le périmètre sanitaire d'émergence est défini par le terrain clôturé protégeant les trois captages Thierry-Lorraine, Reine-Lorraine et Pompilius, selon le schéma figurant dans le dossier.

*Installations de transport jusqu'à l'usine d'embouteillage*

La pompe immergée permet un débit de 5 à 70 $m^3/h$. Elle est munie à l'aspiration d'une crépine en acier inoxydable. Elle achemine l'eau captée vers l'usine d'embouteillage située à Contrexéville, à 3,1 km de la source et traverse presque exclusivement des zones forestières et agricoles. Dans son dernier tronçon, la canalisation longe, sur 100 m, un quartier d'habitation avant de pénétrer dans l'usine d'embouteillage.

La canalisation suit le tracé et utilise la même fouille que celle transportant l'eau de la source Reine-Lorraine. Sa constitution est la suivante :

— au départ de la tête de captage, un tube acier de 100/104 mm de diamètre portant le manomètre et le robinet de prélèvement ;

— une vanne d'isolement ;

— une conduite en fonte centrifugée de 125/149 mm de diamètre revêtue intérieurement d'un ciment centrifugé, d'une longueur de 2,2 km ; les raccords de tuyau sont constitués de joints en caoutchouc ;

— une conduite en PVC pression de 10 bars, de qualité alimentaire et de 98,8/110 mm de diamètre, jusqu'à l'usine.

L'ensemble de la conduite est posée au fond d'une tranchée, à 1,40 m de profondeur, sur un lit de sable de 40 cm.

La traversée de la route CD 429 au km 21,205 a été réalisée avec l'autorisation de la Direction Départementale de l'Equipement des Vosges, selon ses

prescriptions, notamment par l'emploi d'une gaine de protection en ciment de 1 000 mm de diamètre enrobé dans du sable.

La traversée de la voie ferrée au km 64,420 de la ligne Nancy-Merrey a été réalisée en accord avec la SNCF et selon ses prescriptions, à savoir :

— implantation dans une fouille en tranchée ;
— protection dans une gaine PVC de 192/200 mm de diamètre ;
— enrobage de béton ;
— mise en place de deux vannes d'arrêt de part et d'autre de la voie ferrée.

La traversée de la rivière Le Vair, à 220 m du captage, s'effectue par une passerelle aérienne en acier avec protection thermique et mécanique de la tuyauterie entre les parcelles 854 et 523 de la commune de Norroy-sur-Vair, dont l'exploitant est propriétaire.

L'arrivée à l'usine d'embouteillage se fait au niveau du stockage central, dans la cuve de stockage de 1 $m^3$ en acier inoxydable réservée à cette eau. De là, elle sera répartie vers les chaînes d'embouteillage.

*Installations de transport*

L'exploitant est propriétaire du terrain où est implanté le captage, du terrain portant l'usine d'embouteillage et de quelques parcelles intermédiaires. Les autres terrains traversés par la canalisation de transport ont fait l'objet de la signature de servitudes amiables entre leurs propriétaires et la Société exploitant les eaux minérales, permettant à cette dernière d'intervenir sur les canalisations. Sur le domaine SNCF, l'autorisation de franchissement est accompagnée de la possibilité d'intervention ultérieure sur l'ouvrage, sous contrôle SNCF.

La demande d'autorisation d'exploiter l'eau de la source Thierry-Lorraine, captée à proximité de la source Reine-Lorraine, et de la transporter jusqu'à l'usine de Contrexéville ne soulève pas d'objection sur le plan technique. En effet, le forage, réalisé en 1964, et les canalisations sont conçus de façon à garantir la conservation de la qualité et des caractéristiques des eaux captées : l'ouvrage de forage est éloigné de toutes sources de pollution et les canalisations passent exclusivement dans des zones agricoles et forestières.

## ANALYSES

Conformément aux articles 7 et 13 du décret du 28 mars 1957, le Laboratoire national des Etudes hydrologiques et thermales a procédé à des prélèvements pour analyses bactériologiques, physico-chimiques et radioactinologiques aux points suivants :

— le 27 septembre 1994, à l'émergence et après transport à distance et stockage central des sources Pavillon, Légère, Great-Source et Thierry-Lorraine. Il a également été prélevé des échantillons d'eau de la source Pavillon, conditionnés en emballage PVC de 0,5 et 1,5 l ;

— le 4 avril 1995, à l'émergence de Great-Source et Thierry-Lorraine.

## Analyses bactériologiques

Les analyses bactériologiques, effectuées à l'émergence de chaque captage, montrent que leur eau est très pure. La présence de germes aérobies revivifiables est faible, voire nulle et il n'a pas été décelé de germes témoins de contamination fécale, de *Pseudomonas aeruginosa*, ni de *Legionella pneumophila* (tableau I). Leur transport, puis leur stockage, dans des réservoirs en acier inoxydable de grande capacité, et l'embouteillage de l'eau de la source Pavillon n'altèrent pas leurs qualités bactériologiques, celles-ci demeurant conformes aux critères définis par la réglementation française. D'autre part, les analyses de surveillance effectuées depuis 1937 ont toujours été satisfaisantes, l'eau restant conforme à la réglementation en vigueur.

## Analyses physico-chimiques

Les analyses physico-chimiques, effectuées sur les eaux des sources Pavillon, Légère et Great-Source à leur émergence, montrent qu'elles possèdent des compositions très voisines. Il s'agit d'eaux froides, fortement minéralisées (entre 1,8 et 1,9 g/l d'extrait sec avec une charge ionique de 30 milliéquivalents par litre environ), dont les teneurs en sulfates et en calcium sont importantes (respectivement entre 1 100 et 1 200 mg/l et 450 et 5 mg/l), de type sulfaté calcique et magnésien (figures 1 et 2 et tableaux II a et b) [1]. Leur similitude indique, sans ambiguïté, leur appartenance au groupe des sources sulfatées calciques et magnésiennes, caractéristiques de Contrexéville. Pour l'eau de la source Thierry-Lorraine, les analyses font apparaître le même faciès que les sources précitées (figure 2) avec, toutefois, une minéralisation supérieure de 20 % (extrait sec de 2,4 g/l et 36 milliéquivalents et des teneurs en sulfates proches de 1 460 mg/l). L'eau de cette source appartient, sans conteste possible, à la catégorie des eaux minérales de Contrexéville avec, toutefois, des particularités géologiques locales qui modulent l'apport de sulfates. A noter, dans ces eaux, la présence de strontium, élément caractéristique accompagnant systématiquement les eaux sulfatées calciques, la faible quantité de nitrates et l'absence de nitrites.

La recherche de composés organiques volatils et semi-volatils [2], de pesticides organochlorés et d'hydrocarbures aromatiques polycycliques s'est révélée négative sur les échantillons examinés (tableau III).

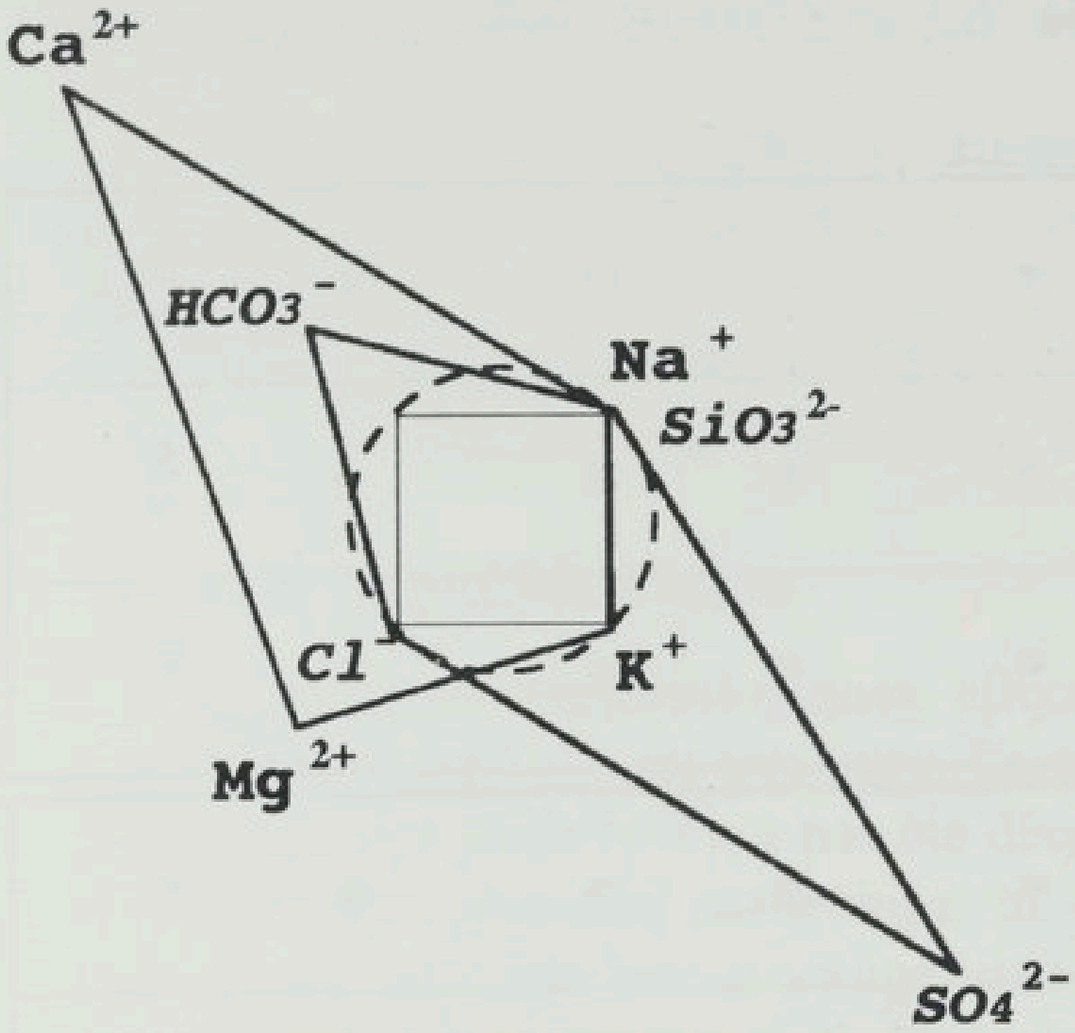
1. Valeurs au second prélèvement.
2. Suivant la liste des composés chimiques de la norme EPA 524.

TABLEAU I. — Analyse bactériologique des eaux minérales de Contrexéville (88).

| Sources de *Contrexéville (88)* | Pavillon | | | | Légère | | Great Source | | | Thierry Lorraine | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | émergence | après transport stockage | embouteillage PVC 0,5 l | embouteillage PVC 1,5 l | émergence | après transport stockage | émergence | après transport stockage | émergence | émergence | après transport stockage | émergence |
| | 27/9/94 | 27/09/199 | 27/9/94 | 27/9/94 | 27/9/94 | 27/9/94 | 27/9/94 | 27/9/94 | 4/4/95 | 27/9/94 | 27/9/94 | 4/4/95 |
| Germes aérobies totaux revivifiables dans 1 ml | | | | | | | | | | | | |
| *24 h à 37 °C* | 0 | 0 | 0 | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 4 | 0 | 0 | 1 |
| *72 h à 22 °C* | 0 | 0 | 4 | 28 | 0 | 2 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 |
| Coliformes totaux dans 250 ml | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Coliformes thermo-tolérants dans 250 ml | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Streptocoques fécaux dans 250 ml | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Spores de bactéries sulfito-réductrices dans 50 ml | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Pseudomonas aeruginosa dans 250 ml | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Légionella (dans 1000 ml) Légionella Pneumophila | < 50 | < 50 | < 50 | < 50 | < 50 | < 50 | < 50 | < 50 | < 50 | < 50 | < 50 | < 50 |

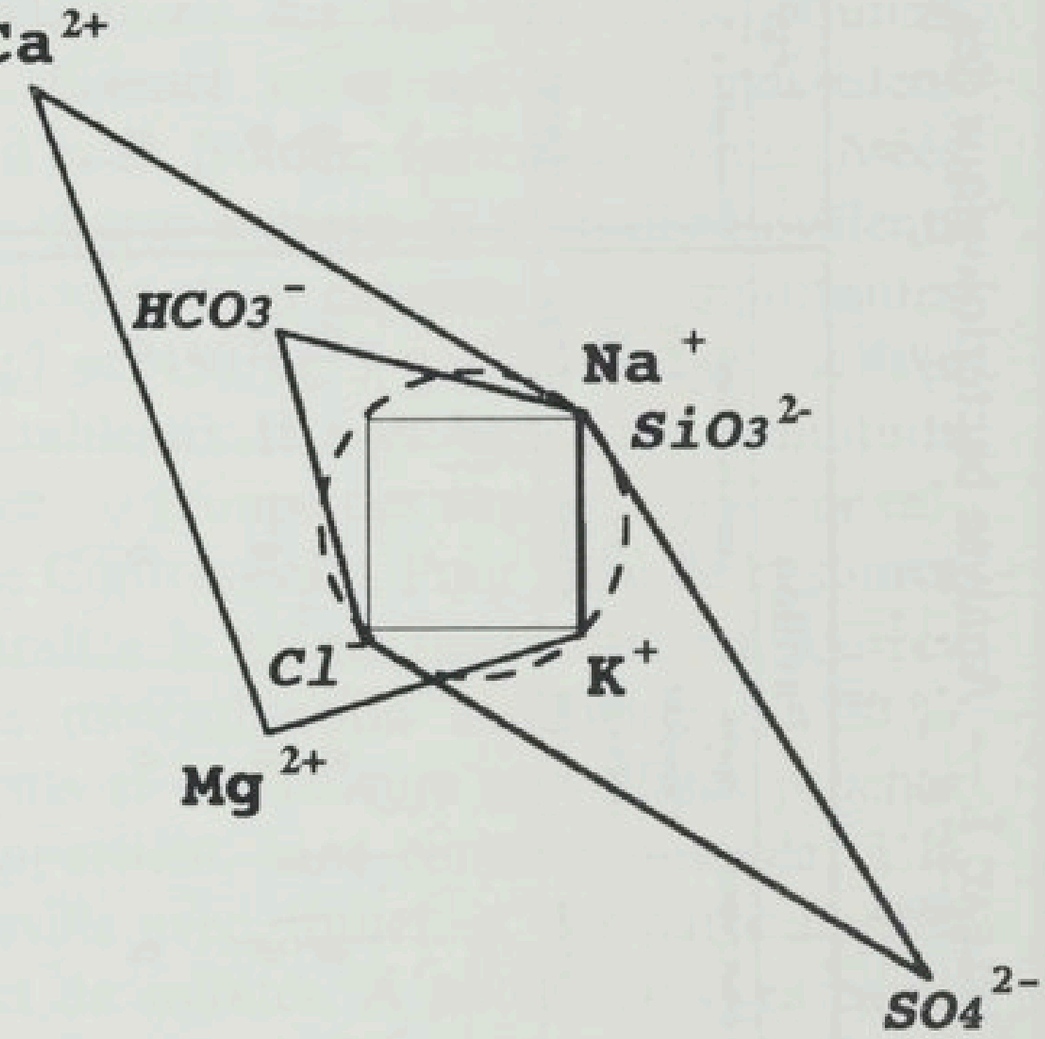


*Bull. Acad. Natle. Méd.*, 1996, *180*, n° 2, 333-359, séance du 6 février 1996




| Cations en mg/l | Anions en mg/l |
|---|---|
| Ca++ : 452 | HCO3- : 367,2 |
| Mg++ : 83,7 | Cl- : 8 |
| Na+ : 8 | SO4-- : 1142 |
| K+ : 2,6 | F- : 0,3 |
| Résidu sec : 1863 | SiO2 : 9,5 |

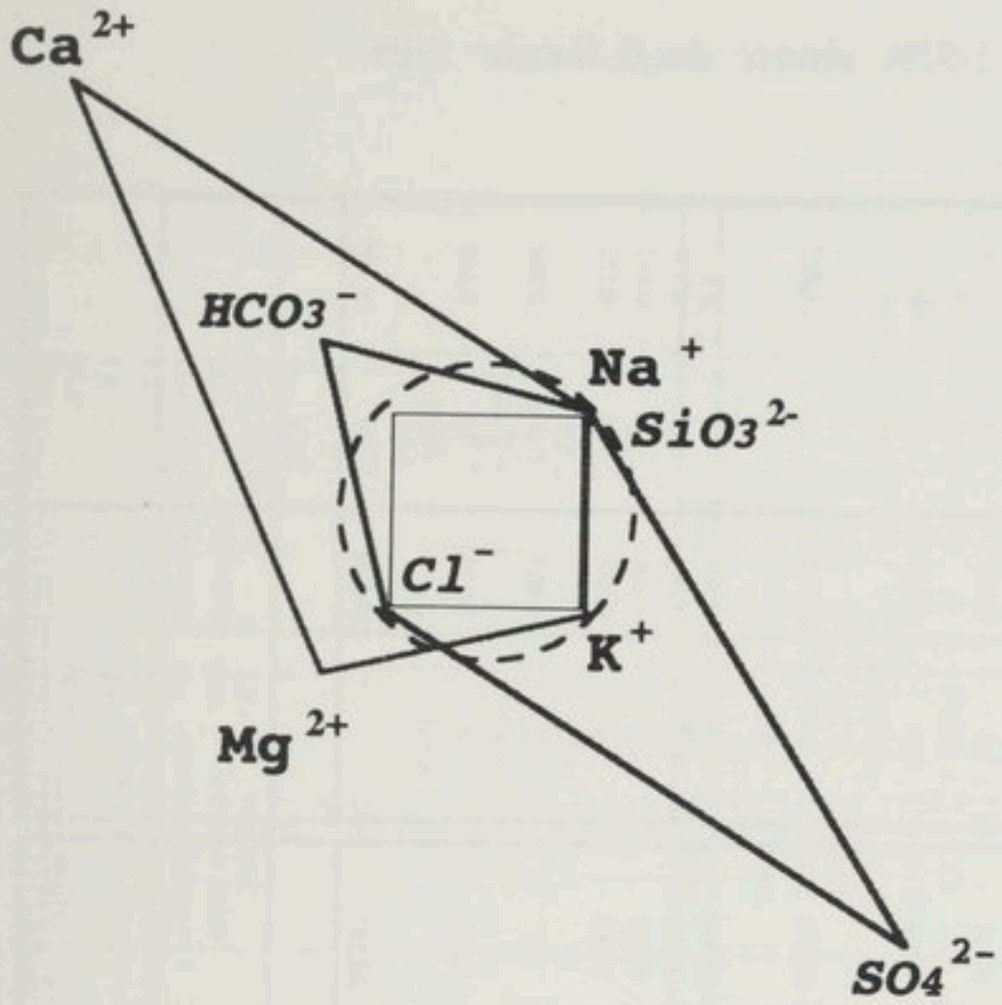
*Source : PAVILLON*




| Cations en mg/l | Anions en mg/l |
|---|---|
| Ca++ : 450 | HCO3- : 367,2 |
| Mg++ : 87,5 | Cl- : 7,9 |
| Na+ : 7,8 | SO4-- : 1120 |
| K+ : 2,7 | F- : 0,3 |
| Résidu sec : 1939 | SiO2 : 9 |

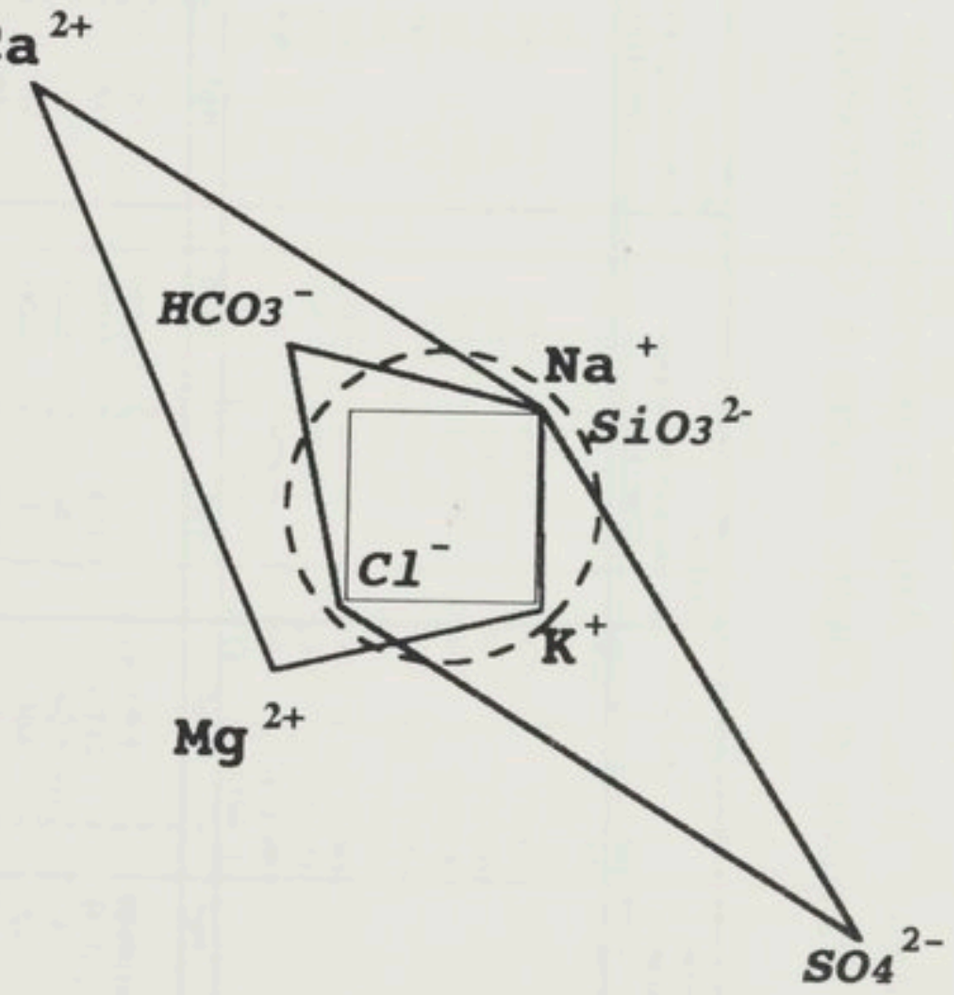
*Source : LEGERE*

FIGURE 1. — Représentation graphique de l'eau des sources Pavillon et Légère situées à Contrexéville (Vosges), prélèvement à l'émergence le 27 septembre 1994. Laboratoire d'Hydrologie du Ministère de la Santé.




| Cations en mg/l | Anions en mg/l |
|---|---|
| Ca++ : 515 | HCO3- : 331,8 |
| Mg++ : 64 | Cl- : 5,9 |
| Na+ : 14,6 | SO4-- : 1207 |
| K+ : 3,1 | F- : 0,5 |
| Résidu sec : 2080 | SiO2 : 13,2 |

*Source : GREAT SOURCE*




| Cations en mg/l | Anions en mg/l |
|---|---|
| Ca++ : 593 | HCO3- : 362,3 |
| Mg++ : 80,2 | Cl- : 13,2 |
| Na+ : 12,6 | SO4-- : 1460 |
| K+ : 3,5 | F- : 0,3 |
| Résidu sec : 2364 | SiO2 : 9,1 |

*Source : THIERRY-LORRAINE*

FIGURE 2. — Représentation graphique de l'eau des sources Great Source et Thierry-Lorraine situées à Contrexéville (Vosges), prélèvement à l'émergence le 4 avril 1995. Laboratoire d'Hydrologie du Ministère de la Santé.

TABLEAU II a. — Analyse physico-chimique des eaux minérales des sources Pavillon et Légère situées à Contrexéville (Vosges).

| Sources de Contrexéville (88)<br>Point de prélèvement<br>Date du prélèvement du Laboratoire | Pavillon<br>émergence<br>27/09/1994 | | Pavillon<br>ap. transport et stockage<br>27/09/1994 | | Pavillon<br>embouteillage PVC 0,5 l<br>27/09/1994 | | Pavillon<br>embouteillage PVC 1,5 l<br>27/09/1994 | | Légère<br>émergence<br>27/09/94 | | Légère<br>après transport<br>27/09/94 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Température en °C | 12,1 | | 12,2 | | | | | | 11,9 | | 12,0 | |
| pH | 7,1 | | 7,2 | | 7,1 | | 7,1 | | 7,1 | | 7,0 | |
| Conductivité à 20°C en µS/cm | 1953 | | 1979 | | 1982 | | 1978 | | 1976 | | 1976 | |
| Alcalinité en ml N/10 | 60,2 | | 60,2 | | 60,7 | | 61,2 | | 60,2 | | 60,7 | |
| SiO2 (Silice) en mg/l | 9,5 | | 9,1 | | 9,1 | | 9,1 | | 9 | | 9 | |
| CO2 libre en mg/l | < 20 | | < 20 | | < 20 | | < 20 | | < 20 | | < 20 | |
| Carbone Organique Total en mg/l | 0,2 | | 0,2 | | 0,3 | | 0,3 | | 0,3 | | 0,3 | |
| Résidu sec 180°C en mg/l | 1863 | | 1848 | | 1889 | | 1887 | | 1939 | | 1949 | |
| Résidu sec 260°C en mg/l | 1853 | | 1838 | | 1879 | | 1878 | | 1926 | | 1936 | |
| Résidu sulfaté en mg/l | 1996 | | 1994 | | 2008 | | 2007 | | 2095 | | 2008 | |
| **Anions en mg/l** | mg/l | méq/l | mg/l | méq/l | mg/l | méq/l | mg/l | méq/l | mg/l | méq/l | mg/l | méq/l |
| HCO3- Hydrogénocarbonates | 367,2 | 6,020 | 367,2 | 6,020 | 370,3 | 6,070 | 373,3 | 6,120 | 367,2 | 6,020 | 370,3 | 6,070 |
| SO4-- Sulfates | 1142 | 23,777 | 1148 | 23,902 | 1147 | 23,881 | 1138 | 23,694 | 1120 | 23,319 | 1128 | 23,485 |
| Cl- Chlorures | 8 | 0,226 | 8 | 0,224 | 8,1 | 0,229 | 7,9 | 0,222 | 7,9 | 0,223 | 7,8 | 0,220 |
| NO3- Nitrates | 2,5 | 0,041 | 2,5 | 0,041 | 2,4 | 0,039 | 2,5 | 0,041 | 2,5 | 0,040 | 2,7 | 0,044 |
| NO2- Nitrites | < 0,02 | | < 0,02 | | < 0,02 | | < 0,02 | | < 0,02 | | < 0,02 | |
| F- Fluorures | 0,3 | 0,016 | 0,3 | 0,016 | 0,3 | 0,016 | 0,3 | 0,016 | 0,3 | 0,016 | 0,3 | 0,016 |
| PO4--- Phosphates | < 0,1 | | < 0,1 | | < 0,1 | | < 0,1 | | < 0,1 | | < 0,1 | |
| *Total anions* | | *30,079* | | *30,203* | | *30,235* | | *30,092* | | *29,618* | | *29,835* |
| **Cations en mg/l** | | | | | | | | | | | | |
| Ca++ Calcium | 452 | 22,540 | 450 | 22,455 | 450 | 22,455 | 451 | 22,495 | 450 | 22,455 | 454 | 22,655 |
| Mg++ Magnésium | 83,7 | 6,883 | 85 | 6,990 | 86,2 | 7,089 | 86,2 | 7,089 | 87,5 | 7,196 | 85 | 6,990 |
| K+ Potassium | 2,6 | 0,066 | 2,6 | 0,066 | 2,7 | 0,069 | 2,5 | 0,064 | 2,7 | 0,069 | 2,4 | 0,061 |
| Na+ Sodium | 8 | 0,348 | 8,0 | 0,348 | 8 | 0,348 | 8 | 0,348 | 7,8 | 0,339 | 7,4 | 0,322 |
| Li+ Lithium | < 0,1 | | < 0,1 | | < 0,1 | | < 0,1 | | < 0,1 | | < 0,1 | |
| Fe++ Fer | 0,4 | 0,014 | 0,006 | 0,000 | < 0,005 | | < 0,005 | | 0,2 | 0,007 | 0,008 | 0,000 |
| Mn++ Manganèse | < 0,001 | | < 0,001 | | < 0,001 | | < 0,001 | | < 0,001 | | < 0,001 | |
| Sr++ Strontium | 7,6 | 0,173 | 7,8 | 0,178 | 7,7 | 0,176 | 7,5 | 0,171 | 7,6 | 0,173 | 7,3 | 0,167 |
| NH4+ Ammonium | < 0,03 | | < 0,03 | | < 0,03 | | < 0,03 | | < 0,03 | | < 0,03 | |
| *Total cations* | | *30,025* | | *30,038* | | *30,137* | | *30,167* | | *30,240* | | *30,195* |
| **Traces en µg/l** | | | | | | | | | | | | |
| Al Aluminium | 9 | | 4 | | 15 | | 3 | | 6 | | 7 | |
| As Arsenic | < 5 | | < 5 | | < 5 | | < 5 | | < 5 | | < 5 | |
| B Bore | 200 | | 210 | | 180 | | 210 | | 440 | | 280 | |
| Cd Cadmium | < 1 | | < 1 | | < 1 | | < 1 | | < 1 | | < 1 | |
| Cr Chrome | < 1 | | < 1 | | < 1 | | < 1 | | < 1 | | < 1 | |
| Cu Cuivre | < 5 | | < 5 | | < 5 | | < 5 | | < 5 | | < 5 | |
| Pb Plomb | < 10 | | < 10 | | < 10 | | < 10 | | < 10 | | < 10 | |
| Zn Zinc | < 5 | | < 5 | | < 5 | | < 5 | | < 5 | | < 5 | |

TABLEAU II b. — Analyse physico-chimique des eaux minérales des sources Great-Source et Thierry-Lorraine situées à Contrexéville (Vosges).

| Sources de Contrexéville (88) | | Great Source émergence 27/09/94 | | Great Source après transport 27/09/94 | | Great Source émergence 04/04/1995 | | Thiérry-Lorraine émergence 27/09/94 | | Thiérry-Lorraine après transport 27/09/94 | | Thierry Lorraine émergence 04/04/1995 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Point de prélèvement | | | | | | | | | | | | | |
| Date du prélèvement du Laboratoire | | | | | | | | | | | | | |
| Température en °C | | 11,7 | | 12,1 | | 11,6 | | 10,9 | | 11,7 | | 10,7 | |
| pH | | 7,1 | | 7,1 | | 7,1 | | 7,0 | | 7,1 | | 7,1 | |
| Conductivité à 20°C en µS/cm | | 2010 | | 2010 | | 2010 | | 2320 | | 2320 | | 2260 | |
| Alcalinité en ml N/10 | | 55 | | 54,6 | | 54,4 | | 60,5 | | 60,5 | | 59,4 | |
| SiO2 (Silice) en mg/l | | 13,5 | | 13,5 | | 13,2 | | 9,2 | | 9,3 | | 9,1 | |
| CO2 libre en mg/l | | < 20 | | < 20 | | < 20 | | < 20 | | < 20 | | < 20 | |
| Carbone Organique Total en mg/l | | 0,7 | | 0,5 | | 0,5 | | 0,3 | | 0,4 | | 0,4 | |
| Résidu sec 180°C en mg/l | | 1977 | | 1978 | | 2080 | | 2463 | | 2438 | | 2364 | |
| Résidu sec 260°C en mg/l | | 1964 | | 1962 | | 2049 | | 2431 | | 2421 | | 2321 | |
| Résidu sulfaté en mg/l | | 2033 | | 2070 | | 2077 | | 2463 | | 2461 | | 2384 | |
| **Anions en mg/l** | | mg/l | méq/l | mg/l | méq/l | mg/l | méq/l | mg/l | méq/l | mg/l | méq/l | mg/l | méq/l |
| HCO3- | Hydrogénocarbonates | 335,5 | 5,500 | 333,1 | 5,460 | 331,8 | 5,440 | 369,1 | 6,050 | 369,1 | 6,050 | 362,3 | 5,940 |
| SO4-- | Sulfates | 1183 | 24,630 | 1183 | 24,630 | 1207 | 25,130 | 1423 | 29,627 | 1423 | 29,627 | 1460 | 30,398 |
| Cl- | Chlorures | 5,7 | 0,159 | 5,9 | 0,167 | 5,9 | 0,166 | 17,3 | 0,488 | 17,4 | 0,491 | 13,2 | 0,372 |
| NO3- | Nitrates | < 1 | | < 1 | | < 1 | | 3,2 | 0,052 | 2,8 | 0,045 | 3,8 | 0,061 |
| NO2- | Nitrites | < 0,02 | | < 0,02 | | < 0,02 | | < 0,02 | | < 0,02 | | 0,02 | 0,000 |
| F- | Fluorures | 0,5 | 0,026 | 0,5 | 0,026 | 0,5 | 0,026 | 0,3 | 0,016 | 0,3 | 0,016 | 0,3 | 0,016 |
| Br- | Bromures | | | | | < 0,1 | | | | | | < 0,1 | |
| PO4--- | Phosphates | < 0,1 | | < 0,1 | | < 0,1 | | < 0,1 | | < 0,1 | | < 0,1 | |
| | *Total anions* | | *30,316* | | *30,284* | | *30,763* | | *36,233* | | *36,229* | | *36,787* |
| **Cations en mg/l** | | | | | | | | | | | | | |
| Ca++ | Calcium | 486,9 | 24,296 | 486,5 | 24,276 | 515 | 25,699 | 573 | 28,593 | 570 | 28,443 | 593 | 29,591 |
| Mg++ | Magnésium | 59,5 | 4,893 | 59,2 | 4,868 | 64 | 5,263 | 86,2 | 7,089 | 87,5 | 7,196 | 80,2 | 6,595 |
| K+ | Potassium | 2,9 | 0,074 | 2,9 | 0,074 | 3,1 | 0,079 | 3,4 | 0,087 | 3,4 | 0,087 | 3,5 | 0,090 |
| Na+ | Sodium | 13,3 | 0,578 | 13,4 | 0,583 | 14,6 | 0,635 | 13,7 | 0,596 | 13,9 | 0,604 | 12,6 | 0,548 |
| Li+ | Lithium | 0,1 | 0,014 | 0,1 | 0,014 | 0,1 | 0,014 | < 0,1 | | < 0,1 | | < 0,1 | |
| Fe++ | Fer | 0,3 | 0,011 | 0,3 | 0,011 | 0,19 | 0,007 | < 0,005 | | < 0,005 | | < 0,005 | |
| Mn++ | Manganèse | 0,012 | 0,000 | 0,012 | 0,000 | 0,012 | 0,000 | 0,002 | 0,000 | 0,002 | 0,000 | 0,003 | 0,000 |
| Sr++ | Strontium | 4,0 | 0,091 | 3,9 | 0,089 | 3,8 | 0,087 | 8,9 | 0,203 | 8,9 | 0,203 | 8 | 0,183 |
| NH4+ | Ammonium | 0,1 | 0,005 | 0,1 | 0,006 | < 0,03 | | < 0,03 | | < 0,03 | | 0,08 | 0,004 |
| | *Total cations* | | *29,964* | | *29,922* | | *31,784* | | *36,567* | | *36,533* | | *37,011* |
| **Traces en µg/l** | | | | | | | | | | | | | |
| Al | Aluminium | < 3 | | 4 | | < 3 | | < 3 | | < 3 | | < 3 | |
| As | Arsenic | < 5 | | < 5 | | < 5 | | < 5 | | < 5 | | < 5 | |
| B | Bore | 390 | | 410 | | 440 | | 425 | | 410 | | 500 | |
| Cd | Cadmium | < 1 | | < 1 | | < 1 | | < 1 | | < 1 | | < 1 | |
| Cr | Chrome | < 1 | | < 1 | | < 1 | | < 1 | | < 1 | | < 1 | |
| Cu | Cuivre | < 5 | | < 5 | | < 5 | | < 5 | | < 5 | | < 5 | |
| Pb | Plomb | < 10 | | < 10 | | < 10 | | < 10 | | < 10 | | < 10 | |
| Se | Sélénium | - | | - | | < 10 | | - | | - | | < 10 | |
| Zn | Zinc | < 5 | | < 5 | | < 5 | | 6 | | 6 | | 6 | |



Bull. Acad. Natle. Méd., 1996, 180, n° 2, 333-359, séance du 6 février 1996

TABLEAU III. — Analyse des micropolluants organiques et de la radioactivité Contrexéville (88).

| Sources de Contrexéville (88) prélèvements par le Laboratoire d'Hydrologie du Ministère de la Santé | Pavillon émergence 27/09/94 | Légère émergence 27/09/94 | Great-Source émergence 27/09/94 | Great-Source émergence 4/04/95 | Thierry-Lorraine émergence 27/09/94 | Thierry-Lorraine émergence 4/04/95 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *COMPOSES ORGANO-VOLATILS en microgramme/litre* | | | | | | | |
| Trichlorofluorométhane | - | - | - | < 0,1 | - | < 0,1 | |
| 1,1 dichloroéthène | - | - | - | < 0,1 | - | < 0,1 | |
| Chlorure de méthylène | - | - | - | < 0,1 | - | < 0,1 | |
| trans-1,2-dichloroéthène | - | - | - | < 0,1 | - | < 0,1 | |
| 1,1 dichloroéthane | - | - | - | < 1 | - | < 0,1 | |
| Chloroforme | - | - | - | < 0,1 | - | < 0,1 | |
| 1,1,1-trichloroéthane | - | - | - | < 1 | - | < 0,1 | |
| Tétrachlorure de carbone | - | - | - | < 0,1 | - | < 0,1 | |
| 1,2-dichloroéthane | - | - | - | < 1 | - | < 0,1 | |
| Benzène | - | - | - | < 1 | - | < 0,1 | |
| 1,2-dichloropropane | - | - | - | < 0,1 | - | < 0,1 | |
| Trichloroéthène | - | - | - | < 0,1 | - | < 0,1 | |
| Bromodichlorométhane | - | - | - | < 0,1 | - | < 0,1 | |
| Dibromochlorométhane | - | - | - | < 0,1 | - | < 0,1 | |
| trans-1,3-dichloropropène | - | - | - | < 0,1 | - | < 0,1 | |
| Toluène | - | - | - | < 0,1 | - | < 0,1 | |
| cis-1,3-dichloropropène | - | - | - | < 0,1 | - | < 0,1 | |
| 1,1,2-trichloroéthane | - | - | - | < 0,1 | - | < 0,1 | |
| Tétrachloroéthène | - | - | - | < 0,1 | - | < 0,1 | |
| Chlorobenzène | - | - | - | < 0,1 | - | < 0,1 | |
| 1,1,1,2-tétrachloroéthane | - | - | - | < 0,1 | - | < 0,1 | |
| Ethylbenzène | - | - | - | < 0,1 | - | < 0,1 | |
| Bromoforme | - | - | - | < 0,1 | - | < 0,1 | |
| 1,1,2,2- tétrachloroéthane | - | - | - | < 0,1 | - | < 0,1 | |
| 1,3- dichlorobenzène | - | - | - | < 0,1 | - | < 0,1 | |
| 1,4- dichlorobenzène | - | - | - | < 0,1 | - | < 0,1 | |
| 1,2- dichlorobenzène | - | - | - | < 0,1 | - | < 0,1 | |
| *PESTICIDES ORGANO-CHLORES en microgramme/litre* | | | | | | | |
| Lindane | - | - | - | < 0,1 | - | < 0,1 | |
| Heptachlor | - | - | - | < 0,1 | - | < 0,1 | |
| Dibenzène dichloroéthylène | - | - | - | < 0,1 | - | < 0,1 | |
| Aldrine | - | - | - | < 0,01 | - | < 0,01 | |
| Dieldrine | - | - | - | < 0,01 | - | < 0,01 | |
| Hexachlorobenzène | - | - | - | < 0,01 | - | < 0,01 | |
| *HYDROCARBURES AROMATIQUES POLYCYCLIQUES en nanogramme/litre* | | | | | | | |
| Fluoranthène en ng/l | < 5 | < 10 | < 5 | - | < 5 | - | |
| Benzo(b)fluoranthène en ng/l | < 5 | < 20 | < 5 | - | < 5 | - | |
| Benzo(k)fluoranthène en ng/l | < 5 | < 5 | < 5 | - | < 5 | - | |
| Benzo(a)pyrène en ng/l | < 5 | < 5 | < 5 | - | < 5 | - | |
| Benzo(ghi)pérylène en ng/l | < 10 | < 10 | < 10 | - | < 10 | - | |
| (123 cd)Pyprène en ng/l | < 10 | < 10 | < 10 | - | < 10 | - | |
| *somme des H.A.P. en ng/l* | **< 40** | **< 60** | **< 40** | - | **< 40** | - | |

| *RADIOACTIVITE* | 27/09/94 | 27/09/94 | 27/09/94 | | 27/09/94 | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Activité volumique bêta-totale | < 250 | < 250 | 330 | | < 250 | mBq/l |
| Radium 226 | < 100 | < 100 | traces < 100 | | < 100 | mBq/l |
| Radon 222 | traces < 100 | traces < 100 | traces < 100 | | traces < 100 | Bq/l |
| Uranium naturel | 1,6 | 1,3 | 1 | | 1,8 | µg/l |
| Thorium | < 10 | < 10 | < 10 | | < 10 | µg/l |
| Potassium | 3,1 | 3 | 3,3 | | 3,9 | mg/l |

En ce qui concerne la stabilité de composition chimique de l'eau des sources Great-Source et Thierry-Lorraine, les analyses réalisées à 6 mois d'intervalle ne font pas apparaître de différences significatives, en dehors des fluctuations naturelles portant sur le taux de sulfates (tableau II b).

La comparaison des analyses actuelles effectuées sur l'eau des sources Pavillon, Légère et Great-Source avec celles de nos archives, montre que ces trois eaux ont des compositions très voisines. Pavillon et Légère font preuve, globalement, d'une grande stabilité de composition physico-chimique dans le temps, même si quelques éléments, comme le magnésium ou le strontium, ont pu augmenter de manière significative depuis 30 ans (tableau IV). Par contre, Great-Source apparaissait, autrefois, plus minéralisée, ses caractéristiques étant proches de celles de la source Thierry-Lorraine actuelle. Depuis son recaptage, consécutif au colmatage de l'ancien ouvrage, l'eau présente une minéralisation analogue à la source Pavillon, ce qui démontre son appartenance au groupe des sources de Contrexéville.

Les analyses effectuées après le transport individuel de l'eau des 4 sources par canalisation n'appellent pas de commentaires particuliers : les principaux paramètres demeurent conservés, que ce soit au cours du transport, du stockage dans des réservoirs ou même lors de l'embouteillage pour Pavillon. On peut, toutefois, remarquer la disparition des traces de fer contenues dans l'eau de Pavillon lors du stockage. Il s'agit là d'un phénomène naturel et inévitable d'oxydation de fer ferreux par l'air.

## Analyses radioactinologiques

Sur le plan de la radioactivité, les conclusions du l'Office de Protection contre les Rayonnements Ionisants montrent que l'eau des sources Pavillon, Légère, Great-Source et Thierry-Lorraine peut être exploitée sans restriction (tableau III) :

« La radioactivité de l'eau analysée est très faible et d'origine naturelle : traces de Radium 226 (uniquement pour Great-Source), d'Uranium, de Radon 222 et de l'isotope radioactif (40K), toujours lié aux isotopes stables dans le Potassium naturel.

L'emploi de cette eau pour usage interne et externe peut être envisagé sans restriction.

Cette conclusion concerne strictement la radioactivité à l'exclusion des aspects bactériologiques, virologiques, physico-chimiques, etc. ».

TABLEAU IV. — Suivi de la qualité physico-chimique des eaux minérales de Contrexéville depuis le siècle dernier.

| Source de Contrexéville (88) | Pavillon | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Origine de l'analyse | M. O'Henry | Ecole des Mines | M. Debray | Institut Hydrologie | L.N.S. | L.N.S. émergence | L.N.S. embouteillage | L.N.S. embouteillage | L.N.S. embouteillage | L.N.S. émergence | L.N.S. émergence |
| Point de prélèvement | | | | | | | | | | | |
| Date du prélèvement | 1853 | 1859 | 1864 | 1928 | 1955 | 5/04/61 | 1973 | 1981 | 1985 | 1986 | 1994 |
| pH | | | | 7,0 | 7,0 | 7,1 | 7,5 | 7,1 | 7,3 | 7,1 | 7,1 |
| Conductivité à 20°C en µS/cm | | | | 1951 | 2130 | 1854 | 1953 | 1923 | 2040 | 1932 | 1953 |
| Alcalinité en ml N/10 | 273,5 | 92,8 | 60,8 | 67,2 | 57,2 | 57 | 56,3 | 62 | 61,7 | 61,2 | 60,2 |
| | résultats en mg/l | | | | | | | | | | |
| SiO2 (Silice) | 120 | | 15 | 12,5 | 15,2 | 17,6 | 8,9 | 7,6 | 8,1 | 8 | 9,5 |
| Résidu sec 180°C | 2941 | 2363 | 2166 | 2180 | 2146,4 | 1954,8 | 1982 | 2118 | 2144 | 2032 | 1863 |
| Résidu sulfaté | | | | 2248 | | | | 2144 | | 2070 | 2006 |
| HCO3- Hydrogénocarbonates | 1668 | 566 | 371 | 410 | 349 | 348 | 343 | 378 | 376 | 373 | 367 |
| SO4-- Sulfates | 1051 | 1328,4 | 1313,8 | 1267 | 1275,3 | 1130,8 | 1197,5 | 1200 | 1248 | 1202 | 1142 |
| Cl- Chlorures | 115,4 | 18 | 5,3 | 5,6 | 8,8 | 11,1 | 7,3 | 6,2 | 8,5 | 7,2 | 8 |
| NO3- Nitrates | 3,6 | | | | | | < 0,5 | 2,8 | 2,1 | 0,9 | 2,5 |
| F- Fluorures | | | | 0,6 | | | 0,3 | | 0,33 | 0,26 | 0,3 |
| Ca++ Calcium | 504,6 | 634,7 | 572,6 | 580,2 | 544,3 | 509,5 | 482 | 481,3 | 498 | 471 | 452 |
| Mg++ Magnésium | 84,4 | 43,8 | 53,8 | 47 | 66,3 | 48,6 | 73 | 83,8 | 83,4 | 85 | 83,7 |
| K+ Potassium | | | 3,1 | 2,9 | | 3,8 | 3,5 | 3,5 | 4,2 | 3,1 | 2,6 |
| Na+ Sodium | 152,1 | | 11,3 | 9 | | 12,6 | 9,7 | 6,3 | 8,5 | 7,5 | 8 |
| Li+ Lithium | | | 0,5 | 0,06 | | | 0,05 | 0,048 | 0,1 | < 0,04 | < 0,1 |
| Fe++ Fer | | | 2,4 | 0,6 | | 1,4 | < 0,05 | 0,01 | < 0,005 | 0,018 | 0,4 |
| Sr++ Strontium | | | | 3,2 | | | 7 | 8,8 | 9 | 8,4 | 7,6 |

| Source de Contrexéville (88) | Légère | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Origine de l'analyse | M. Lajoux | Collège de France | L.N.S. émergence | L.N.S. embouteillage | L.N.S. émergence | L.N.S. émergence |
| Point de prélèvement | | | | | | |
| Date du prélèvement | 1881 | 1928 | 1961 | 1968 | 1986 | 1994 |
| pH | | 7,0 | 7,0 | 7,4 | 7,2 | 7,1 |
| Conductivité à 20°C en µS/cm | 1890 (calculée) | 1770 | 1937 | 1806 | 1889 | 1976 |
| Alcalinité en ml N/10 | 56 | 65,7 | 56,6 | 54,7 | 62,2 | 60,2 |
| | résultats en mg/l | | | | | |
| SiO2 (Silice) | 54 | 13,6 | 14 | 12 | 8,3 | 9 |
| Résidu sec 180°C | | 2005 | 2048,5 | 1521,7 | 2018 | 1939 |
| Résidu sulfaté | | 2068 | 2027 | 1537,8 | 2065 | 2095 |
| HCO3- Hydrogénocarbonates | 342 | 401 | 345 | 334 | 379 | 367 |
| SO4-- Sulfates | 1173 | 1141 | 1218 | 1036 | 1208 | 1120 |
| Cl- Chlorures | 5,4 | 4,8 | 10,5 | 5 | 8 | 8 |
| NO3- Nitrates | | | | 1,3 | 2,3 | 2,5 |
| F- Fluorures | | 0,6 | | | 0,28 | 0,3 |
| Ca++ Calcium | 504,5 | 530,2 | 545,3 | 483,6 | 473,8 | 450 |
| Mg++ Magnésium | 53,5 | 45,3 | 48 | 39 | 80,5 | 87,5 |
| K+ Potassium | | 2,5 | 3,1 | 2,6 | 3,4 | 2,7 |
| Na+ Sodium | 13,6 | 8 | 12,7 | 7 | 8 | 7,8 |
| Li+ Lithium | | 0,1 | | 0,1 | < 0,04 | < 0,1 |
| Fe++ Fer | | 0,6 | 2,34 | 1,2 | 0,086 | 0,2 |
| Sr++ Strontium | | 2,2 | | 2,9 | 8,5 | 7,6 |

CONTREXEVILLE (VOSGES)

| Great-Source | | | |
|---|---|---|---|
| Fac. Nancy émergence | L.N.S. émergence | L.N.S. émergence | L.N.S. émergence |
| 1957 | 1968 | 1986 | 1995 |
| 7,1 | 7,5 | 7,1 | 7,1 |
| 2083 | 2166 | 2104 | 2010 |
| | 45,5 | 53,5 | 54,4 |
| | résultats en mg/l | | |
| | 14,4 | 12,6 | 13,2 |
| 2530 | 2383 | 2397 | 2080 |
| | 2346 | 2418 | 2077 |
| | 278 | 326 | 332 |
| 1419 | 1460 | 1456 | 1207 |
| 7 | 5,6 | 5,3 | 5,9 |
| | 0,2 | < 0,2 | < 1 |
| | | 0,47 | 0,5 |
| 616 | 592,6 | 570 | 515 |
| 52 | 74,1 | 72,5 | 64 |
| | 4,1 | 4,2 | 3,1 |
| | 13,8 | 14,5 | 14,6 |
| | 0,012 | 0,06 | 0,1 |
| | 3,2 | 0,045 | 0,2 |
| | 5,9 | 5,6 | 3,8 |

*Bull. Acad. Natle. Méd.*, 1996, *180*, n° 2, 333-359, séance du 6 février 1996

## CONCLUSIONS

Ces demandes ont fait l'objet d'une instruction préalable par les services départementaux et ont reçu des avis favorables de la part de la DRIRE (les 16 avril 1993 pour Pavillon, Légère et Great-Source ; les 1er juin et 25 octobre 1993 pour Thierry-Lorraine), de la DDASS (les 28 mai 1993 pour Pavillon, Légère et Great-Source ; le 30 juin 1994 pour Thierry-Lorraine) et du Conseil départemental d'Hygiène (les 11 juin 1993 pour Pavillon, Légère et Great-Source ; le 7 juillet 1994 pour Thierry-Lorraine).

Les analyses effectuées sur l'eau des sources Pavillon, Légère, Great-Source et Thierry-Lorraine par le Laboratoire national des Etudes hydrologiques et thermales, sur des prélèvements à 7 mois d'intervalle, attestent de leur excellente qualité bactériologique et de leur constance de composition physico-chimique. Elles attestent, aussi, de leur grande analogie qui les range dans la catégorie des eaux caractéristiques de Contrexéville, même si l'eau de Thierry-Lorraine apparaît légèrement plus minéralisée.

Par ailleurs, les mesures de protection sanitaire de chaque source apparaissent satisfaisantes, ce qui légitime la demande de l'exploitant.

Le transport de l'eau par canalisation s'effectue dans de bonnes conditions, les caractéristiques bactériologiques et physico-chimiques de l'eau restant identiques, y compris à l'embouteillage, ce qui, pour une eau fortement sulfatée calcique, ne peut être réalisé qu'avec beaucoup de précautions.

Le Laboratoire national des études hydrologiques et thermales propose de soumettre cette demande à l'examen de l'Académie nationale de médecine.

*Bull. Acad. Natle. Méd.*, 1996, *180*, n° 2, 361, séance du 6 février 1996

**VOEU**

# concernant l'encéphalopathie spongiforme bovine (ESB) et la maladie de Creutzfeldt-Jakob

Alain RÉRAT *, Jeanne BRUGÈRE-PICOUX **

L'Académie nationale de médecine,

*considérant*

— la persistance de l'ESB au Royaume-Uni ;

— l'annonce de cas de maladie de Creutzfeldt-Jakob (MCJ) chez quatre fermiers et chez deux adolescents au Royaume-Uni ;

— l'impossibilité de pouvoir réfuter scientifiquement l'éventualité d'une relation entre les encéphalopathies spongiformes transmissibles (EST) humaines et les EST animales ;

— l'existence d'un flux d'importation en France de veaux âgés de moins de 6 mois en provenance du Royaume-Uni ;

— l'impossibilité de dépister, avant l'abattage, les bovins contaminés asymptomatiques ;

— les récentes interdictions du Royaume-Uni concernant les abats bovins ;

*demande*

— que soient appliquées, en France, les mêmes interdictions qu'au Royaume-Uni sur les abats des veaux importés de ce pays (ne pas autoriser pour la consommation humaine l'intestin, le thymus, la cervelle et la moelle épinière) ;

— que soit maintenu impérativement le réseau de surveillance épidémiologique de la MCJ en Europe.

*
* *

L'Académie, saisie dans sa séance du mardi 6 février 1996, a adopté ce vœu à l'unanimité.

---

MOTS-CLÉS : CREUTZFELDT-JAKOB, MALADIE. ENCÉPHALOPATHIE SPONGIFORME BOVINE. VIANDE. BOVIN. CONTAMINATION ALIMENTAIRE.

KEY-WORDS (Index Medicus) : CREUTZFELDT-JAKOB SYNDROME. ENCEPHALOPATHY, BOVINE SPONGIFORM. MEAT. CATTLE. FOOD CONTAMINATION.

---

* Membre de l'Académie nationale de médecine.

** Professeur de Pathologie médicale du bétail, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort.

*Bull. Acad. Natle. Méd.*, 1996, *180*, n° 2, 363-380, séance du 13 février 1996

# Transformations tissulaires induites et chirurgie cardiaque

Alain CARPENTIER *

J'ai réuni ici, malgré leur apparente diversité, des travaux nés d'une démarche méthodologique commune qui leur confère une certaine unité. Il s'agit de l'utilisation, en clinique humaine, de tissus biologiques modifiés par des moyens physiques ou chimiques appropriés pour les adapter à de nouvelles fonctions. On verra pourquoi les transformations tissulaires qui en résultent éloignent conceptuellement ces tissus du cadre traditionnel des greffes ou/et des plasties chirurgicales et comment on peut en tirer partie en chirurgie cardiaque. Dans le cadre nécessairement limité de cet article, je me bornerai à relater les principaux fondements de cette approche en prenant pour exemple deux applications, les bioprothèses valvulaires et la cardiomyoplastie dynamique.

## Des xénogreffes aux bioprothèses valvulaires

Au début des années 60, lorsqu'un malade présentait une sévère altération d'une valve du cœur, la seule solution était de remplacer cette valve par une prothèse, constituée de matériaux métalliques ou synthétiques ; par exemple alliage Cr Co Ni et silicone pour l'ancêtre des prothèses mécaniques, la valve à bille de Starr. Ces valves, dites mécaniques, se révélèrent très vite thrombogènes. Certes, les anticoagulants permettaient d'atténuer ce risque mais on était sans recours pour les nombreux malades chez qui les anticoagulants étaient contre-indiqués. On crut tenir la solution lors des premières greffes de valvules aortiques de cadavres, réalisées sur l'homme par Donald Ross, en Grande-Bretagne. Elles se révélèrent effectivement non thrombogènes, évitant ainsi le traitement anticoagulant et ses complications. Utilisée pour la première fois en France par Jean-Paul Binet, cette technique révéla très vite ses propres limites : disponibilité en nombre restreint, infections fréquentes, tailles insuffisantes. L'utilisation de valves prélevées sur l'animal, expérimentée en Angleterre par Carlos Duran, semblait pallier ces inconvénients — quantités illimitées,

* Département de Chirurgie Cardio-Vasculaire et de Transplantation d'Organes, Hôpital Broussais, 96, rue Didot, 75674 Paris cedex 14. Tel [1] 43 95 93 01 — Fax [1] 45 42 40 57.

*Tirés-à-part* : Professeur Alain CARPENTIER, à l'adresse ci-dessus.
*Article reçu le 3 avril 1995, accepté le 9 octobre 1995.*

prélèvement aseptique, tailles variées — mais elle se heurtait à un rejet immunologique précoce rédhibitoire. A l'instigation de Jean-Paul Binet, ce problème fit l'objet de mes premières recherches en 1964. Elles aboutirent à la mise au point d'un traitement préalable de la greffe par un sel mercuriel [1] pour réduire l'antigénicité de greffe qui nous permit ensemble, en septembre 1965, d'implanter pour la première fois chez l'homme une hétérogreffe valvulaire en position aortique [2]. L'année suivante, avec Charles Dubost, nous pouvions implanter la première hétérogreffe valvulaire en position mitrale [3].

A l'enthousiasme initial succéda la déception : rejet chronique ou dégénérescence progressive du tissu dévitalisé conduisaient, après quelques mois ou années, à la dysfonction du greffon. A l'évidence, la régénération progressive du tissu par les cellules de l'hôte, tellement souhaitée autrefois par Nageotte qu'il crut pouvoir la décrire, ne se produisait pas. Il fallut renoncer, abandonner le concept de greffe, trouver autre chose, son contraire : éviter toute pénétration cellulaire, prévenir les réactions de rejet et empêcher la dégénérescence sans plus compter, pour cela, sur une « regénération ».

### *La triple hélice*

Tous les tissus conjonctifs, valve cardiaque, péricarde ou autres, sont constitués principalement de collagène, d'élastine et de protéoglycans. Le collagène constitue l'armature du tissu. C'est une molécule remarquable dont la structure en hélice rappelle celle de l'ADN aux différences près qu'il existe trois hélices ou lieu de deux et que les unités répétitives formant ces trois chaînes sont des acides aminés ; précisément l'hydroxyproline, la proline et la glycine (Fig. 1 et 2). Certains radicaux aminés des molécules de collagène et des protéoglycans restent libres et peuvent donc former, avec des aldéhydes, des liaisons covalentes type base de Schiff sous forme oxydée : $CH=N$, ou réduite : $CH_2$-NH. Non seulement l'antigénicité du tissu est ainsi réduite mais, pour peu que l'on choisisse des dialdéhydes de taille appropriée, il est même possible d'établir des ponts intermoléculaires solides entre les molécules de collagène et, ainsi, de renforcer durablement la structure du tissu (Fig. 3). Parmi les dialdéhydes étudiés, le glutaraldéhyde s'est révélé, pour des raisons stéréochimiques, le plus à même de remplir cette double fonction [4]. Le tissu conjonctif (valve ou péricarde), ainsi traité chimiquement, est ensuite façonné en valve tricuspide et monté sur un cadre métallique pour assurer une implantation facile et sûre et protéger le tissu de toute pénétration cellulaire à partir du receveur (Fig. 4).

### *Le concept de bioprothèse et son application clinique*

Ainsi préparées et traitées chimiquement, ces tissus n'ont plus grand chose à voir avec des greffes. A l'inverse de celles-ci, leur pérennité ne dépend pas de la survie des cellules du greffon ou de sa régénération à partir des cellules de

*Bull. Acad. Natle. Méd.*, 1996, *180*, n° 2, 363-380, séance du 13 février 1996

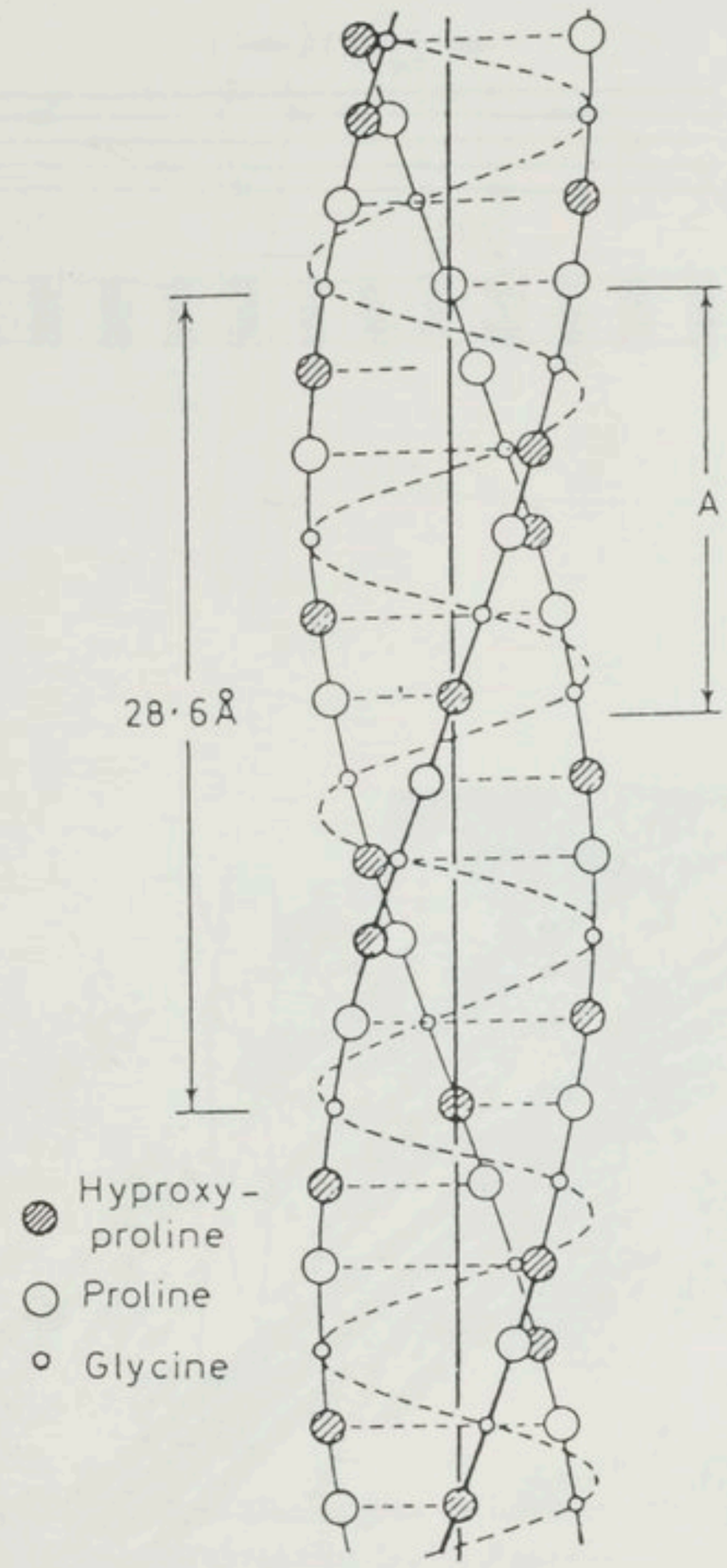



FIG. 1. — Structure moléculaire du collagène. Les séquences d'amino-acides, hydroxyproline, proline, glycine, s'organisent en trois chaînes hélicoïdales reliées par des ponts hydrogènes.

l'hôte mais de la tolérance, la stabilité et la résistance conférées au tissu valvulaire par le traitement chimique. C'est pour marquer cette origine biologique et cette destinée prothétique que fut proposé le terme de « bioprothèse », aujourd'hui universellement adopté pour les désigner [5].

La première « bioprothèse valvulaire » fut implantée chez l'homme en 1968 [6]. Par la suite plusieurs entreprises biomédicales américaines, faute d'industriels français intéressés, entreprenaient la fabrication industrielle de ces valves sur la base de ces travaux. Actuellement, environ 40 % des valves cardiaques utilisées dans le monde en clinique humaine sont des bioprothèses. Ces valves constituent le premier et, jusqu'à présent, le seul exemple d'un tissu animal

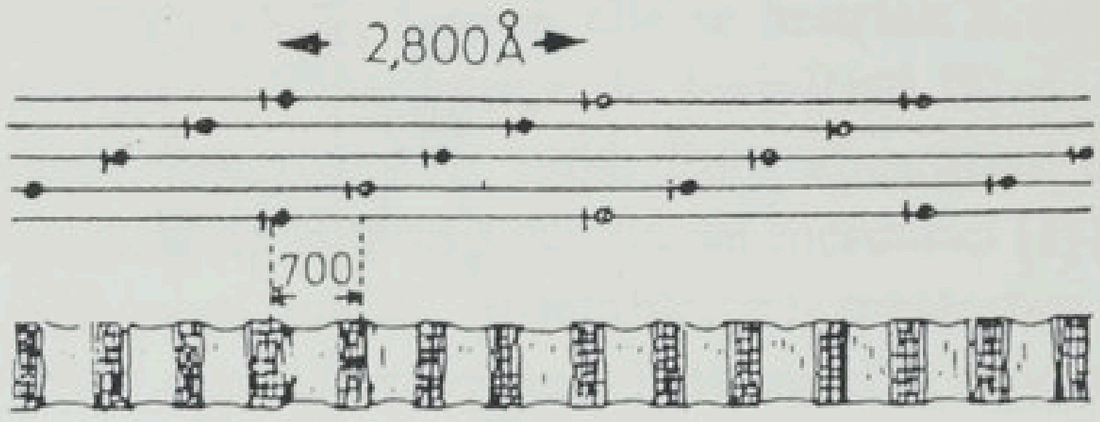



FIG. 2. — Les fibres de collagène présentent, au microscope électronique, des striations d'une périodicité de 700A. Cet aspect caractéristique correspond à une disposition particulière des molécules, en décalage d'un quart de leur longueur d'une rangée à l'autre.

implanté de façon durable (plus de 20 ans) chez l'homme. Autre fait remarquable : malgré le traitement chimique préalable auquel elles sont soumises, elles gardent la précieuse propriété d'être non thrombogènes et donc de ne pas nécessiter d'anticoagulants. Elle ont, par contre, l'inconvénient de s'imprégner de calcium à la longue, ce qui interdit leur utilisation chez l'enfant et oblige chez l'adulte à les remplacer après 10 à 15 ans d'usage (Fig. 5).

*Bull. Acad. Natle. Méd.*, 1996, *180*, n° 2, 363-380, séance du 13 février 1996

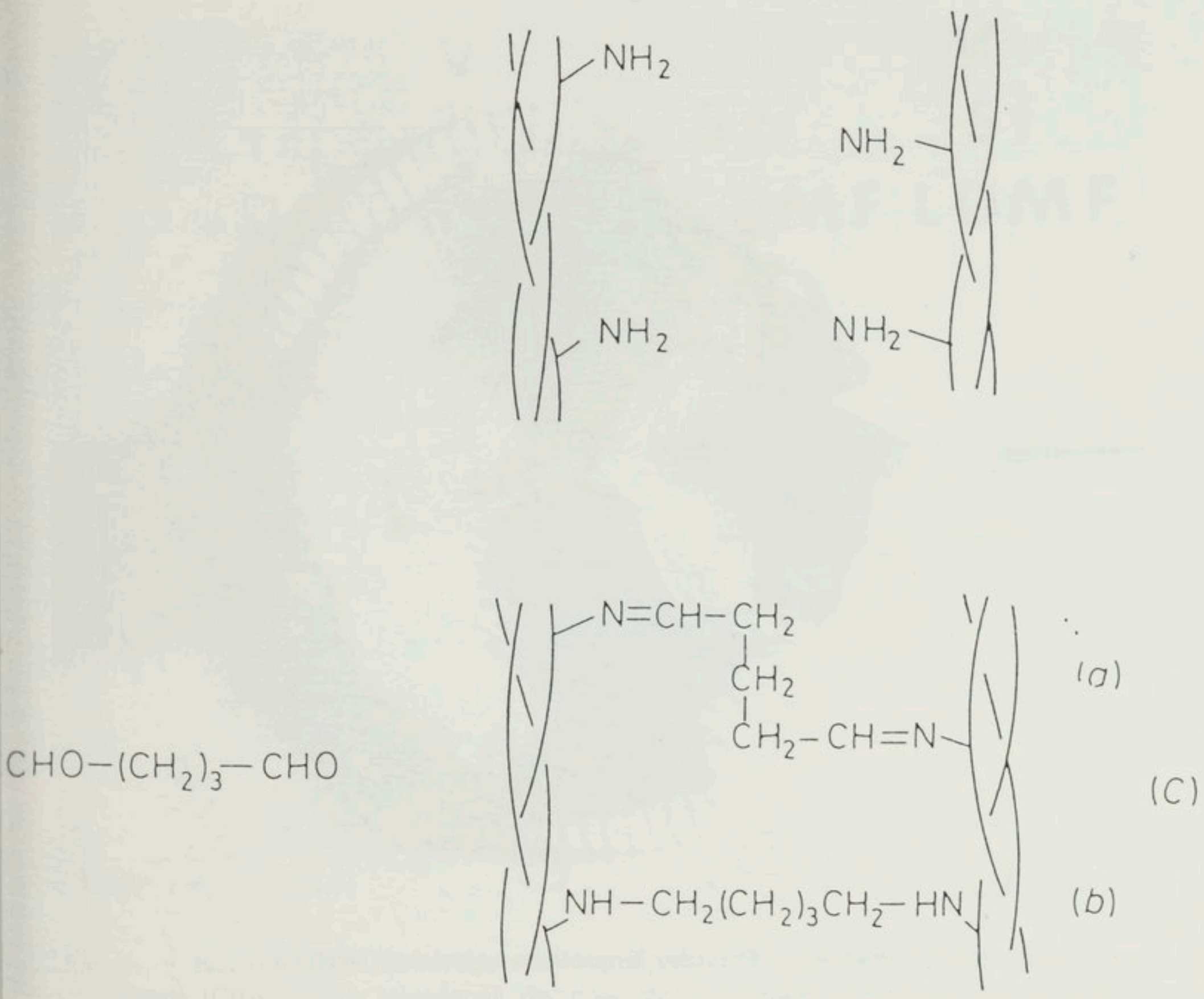



FIG. 3. — Masquage des groupements antigéniques et liaisons intermoléculaires par un dialdéhyde à longue chaîne ($C_5$), le glutaraldéhyde. La figure représente deux types de liaisons non saturées (a) et saturées (b).

### *Calcifications tissulaires*

Nous avons montré que ce processus de calcification n'est pas différent, dans sa genèse et ses modalités, du processus de calcification observé çà et là en clinique humaine dans de nombreuses conditions pathologiques ou dégénératives. Que l'on songe par exemple aux calcifications observées au cours d'affections aussi diverses que les malformations valvulaires aortiques, certaines neuropathies, de nombreux cancers, l'athérosclérose, etc. Des facteurs locaux biologiques, biochimiques et biomécaniques et des facteurs généraux biochimiques et hormonaux y jouent un rôle et les recherches conduites sur ce sujet, dans notre laboratoire, peuvent sans nul doute éclairer ce processus général encore si mystérieux de calcification pathologique. C'est ainsi que nous avons pu identifier cinq facteurs déterminants : la souffrance cellulaire, la porosité tissulaire, des contraintes mécaniques anormales, un excès de phospholipides, la présence

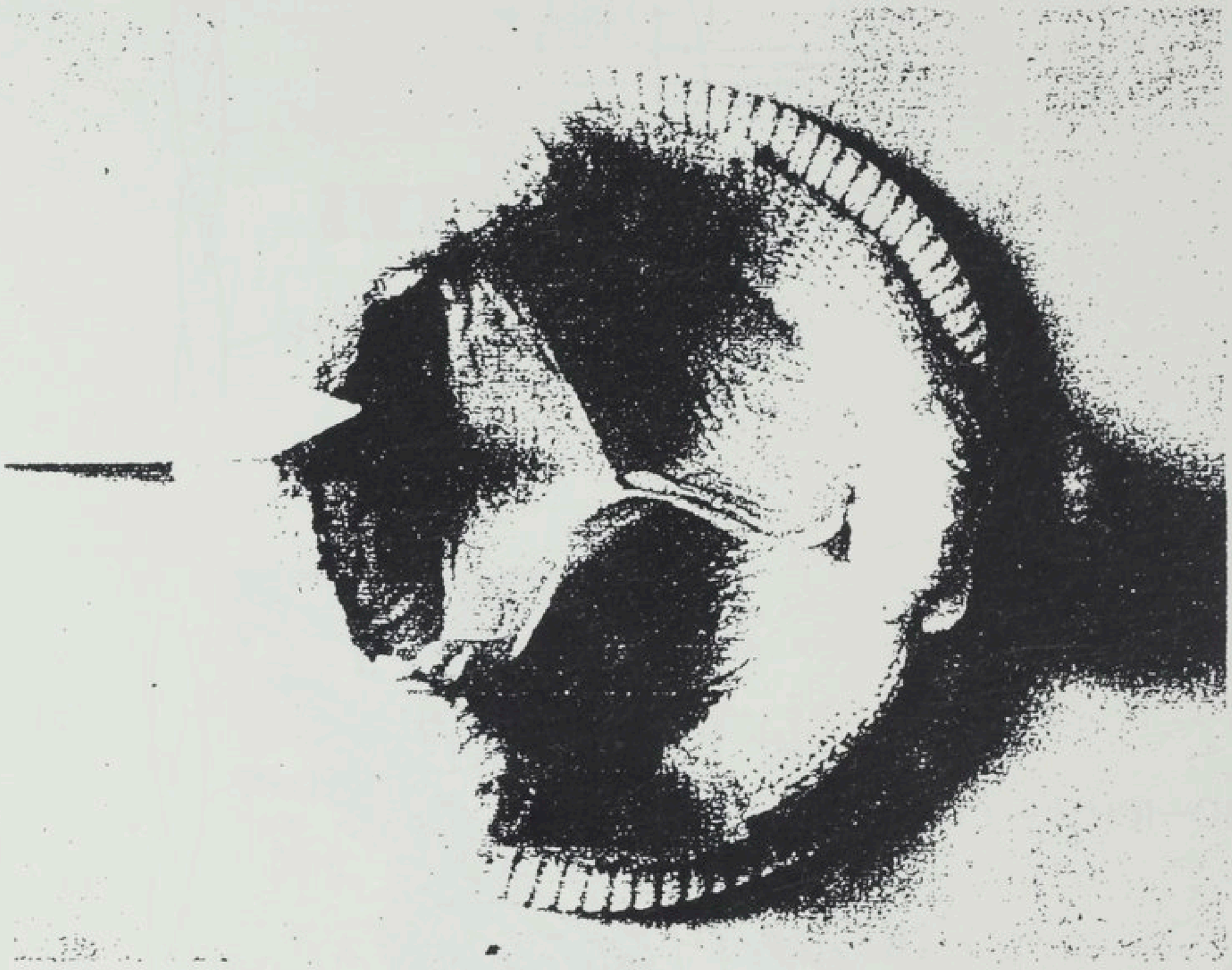


FIG. 4. — Première bioprothèse valvulaire (1968).

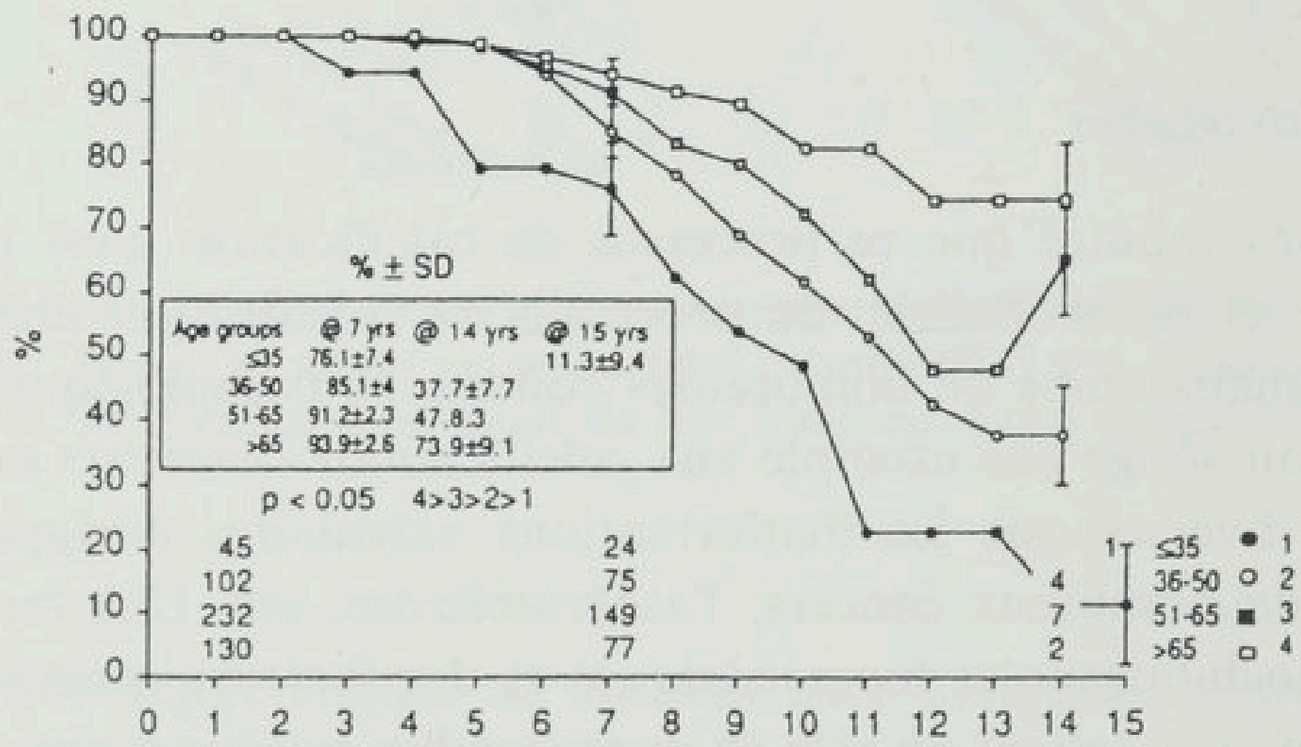



FIG. 5. — Courbes actuarielles de fonctionnement des bioprothèses valvulaires en fonction de l'âge du malade à l'opération (d'après Jamieson WRE, *J Thorac Cardiovasc Surg.*, 1990, *99*, 543-61).

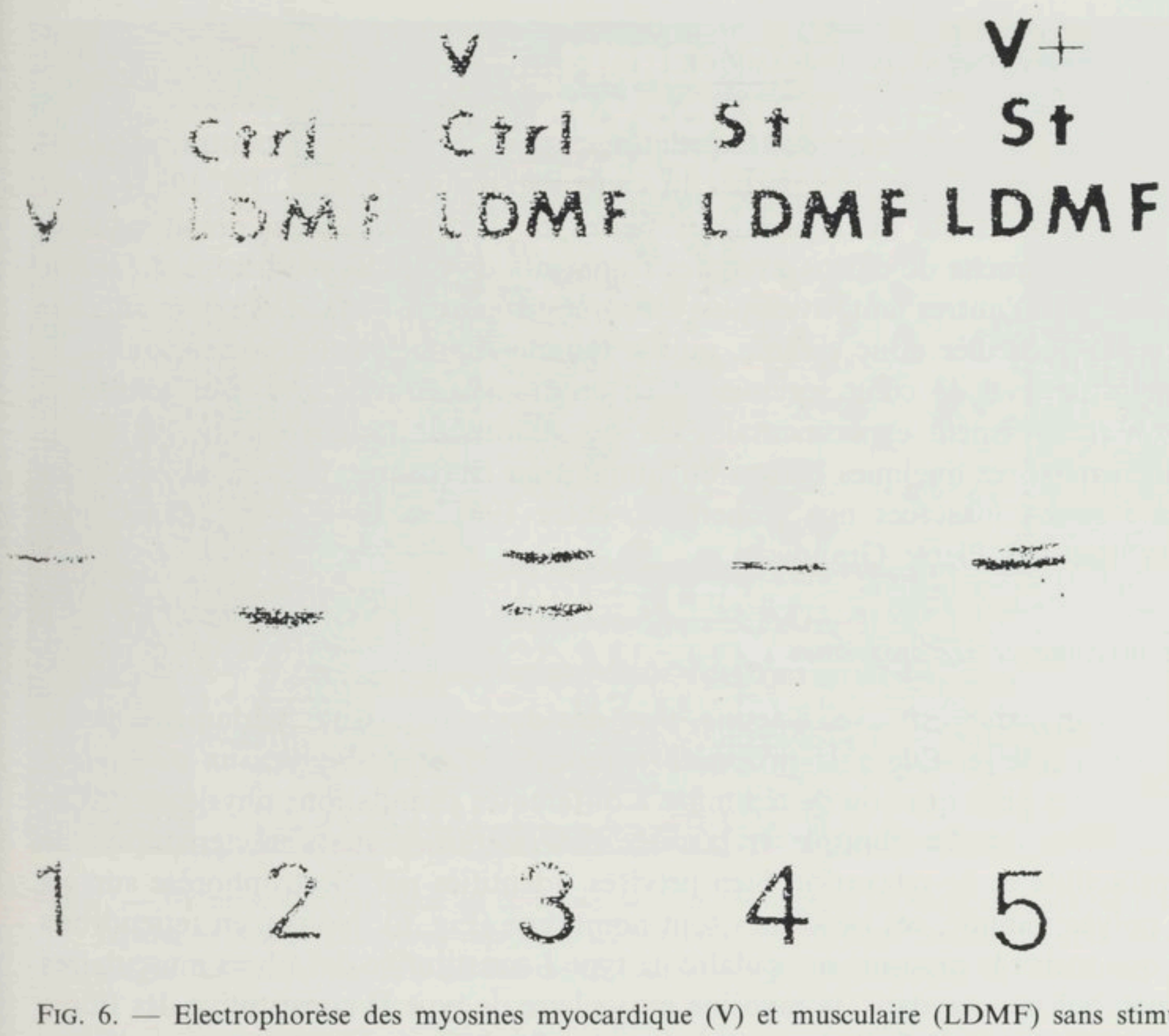



FIG. 6. — Electrophorèse des myosines myocardique (V) et musculaire (LDMF) sans stimulation (Ctrl) et après stimulation électrique (St). Le muscle squelettique non stimulé [2] présente deux isoformes dont l'un disparaît après stimulation électrique [4] pour ne laisser que l'isoforme non fatigable. En [5], on remarque la similitude mais non l'exacte identité entre la myosine myocardique et la myosine du muscle stimulé.

de certaines protéines, notamment l'ostéopontine [7,8]. Parmi les facteurs généraux figurent les dysrégulations biochimiques et hormonales ou encore des facteurs diététiques. Prévenir ou stabiliser le processus de calcification peut être obtenu en agissant sur ces différents facteurs. Ainsi, pour les valves cardiaques, nous avons pu réduire le risque de calcification en améliorant l'hémodynamique transvalvulaire, en diminuant la porosité tissulaire, en réduisant la teneur du tissu en phospholipides. Les résultats de ces recherches permettent maintenant d'envisager l'utilisation de bioprothèses valvulaires chez l'enfant.

Le concept de bioprothèse a donné lieu à d'autres applications : bioprothèses artérielles et tissus bioprothétiques de réparation, en chirurgie plastique notamment.

*Bull. Acad. Natle. Méd.*, 1996, *180*, n° 2, 363-380, séance du 13 février 1996

## La cardiomyoplastie dynamique

L'utilisation d'un muscle squelettique pour renforcer la contraction cardiaque ou remplacer une partie du cœur est un vieux rêve. En 1933, René Leriche avait tenté de réparer des pertes de substances qu'il créait dans le ventricule gauche de chiens avec des fragments de muscle quadriceps du même animal [9]. D'autres tentatives, plus élaborées, suivirent. A la greffe libre succéda la greffe pédiculée donc vivante, puis le muscle stimulé électriquement de façon synchrone avec le cœur, premier tissu contractile fonctionnel. Ces tentatives restèrent purement expérimentales car des lésions de fatigue du muscle apparaissaient après quelques heures de stimulation électrique. C'est à ce problème que furent consacrées nos recherches, entre 1982 et 1984, avec Juan-Carlos Chachques et Pierre Grandjean.

### *La myosine et ses isoformes*

La myosine est, avec l'actine, l'un des deux matériaux fondamentaux du tissu musculaire. Elle a la propriété remarquable de s'adapter aux différentes contraintes physiques ou de répondre à différentes stimulations physiques. Ainsi la myosine est-elle multiple et possède des isoformes aux caractéristiques de contractilité et de relaxation bien précises. Identifiés par électrophorèse sur gel de polyacrilamide, ces isoformes sont nombreux (Fig. 6). Nous n'en retiendrons ici que trois : la myosine musculaire de type I constitutive des fibres musculaires à métabolisme oxydatif, la myosine musculaire de type II constitutive des fibres musculaires à métabolisme glycolytique, enfin la myosine de type cardiaque constitutive des fibres myocardiques à métabolisme oxydatif. A la dualité biochimique de la myosine musculaire correspond une dualité structurelle tout aussi remarquable du muscle squelettique. Celui-ci possède à la fois des fibres musculaires dites « lentes », non fatigables, à métabolisme oxydatif, dont le constituant principal est l'isoforme de type I, et des fibres musculaires dites « rapides », fatigables, à métabolisme glycolytique, dont le constituant principal est l'isoforme de type II (Fig. 7). Fait plus remarquable encore, découvert par le physiologiste anglais Salmons, si l'on stimule un muscle avec des courants électriques de basse fréquence, les fibres rapides se transforment en fibres lentes, de fatigables deviennent infatigables et l'isoforme de type II se transforme en isoforme de type I [10]. Malheureusement, chaque fois que Salmons augmentait la fréquence de stimulation au-dessus de 10 par minute, des lésions de fatigue apparaissaient, limitant considérablement la portée pratique de cette découverte. Tel était l'état des connaissances lorsque nous nous sommes attelés à ce problème et telle était la question : comment rendre infatigable un muscle squelettique de façon à pouvoir l'utiliser pour réparer ou assister le cœur.

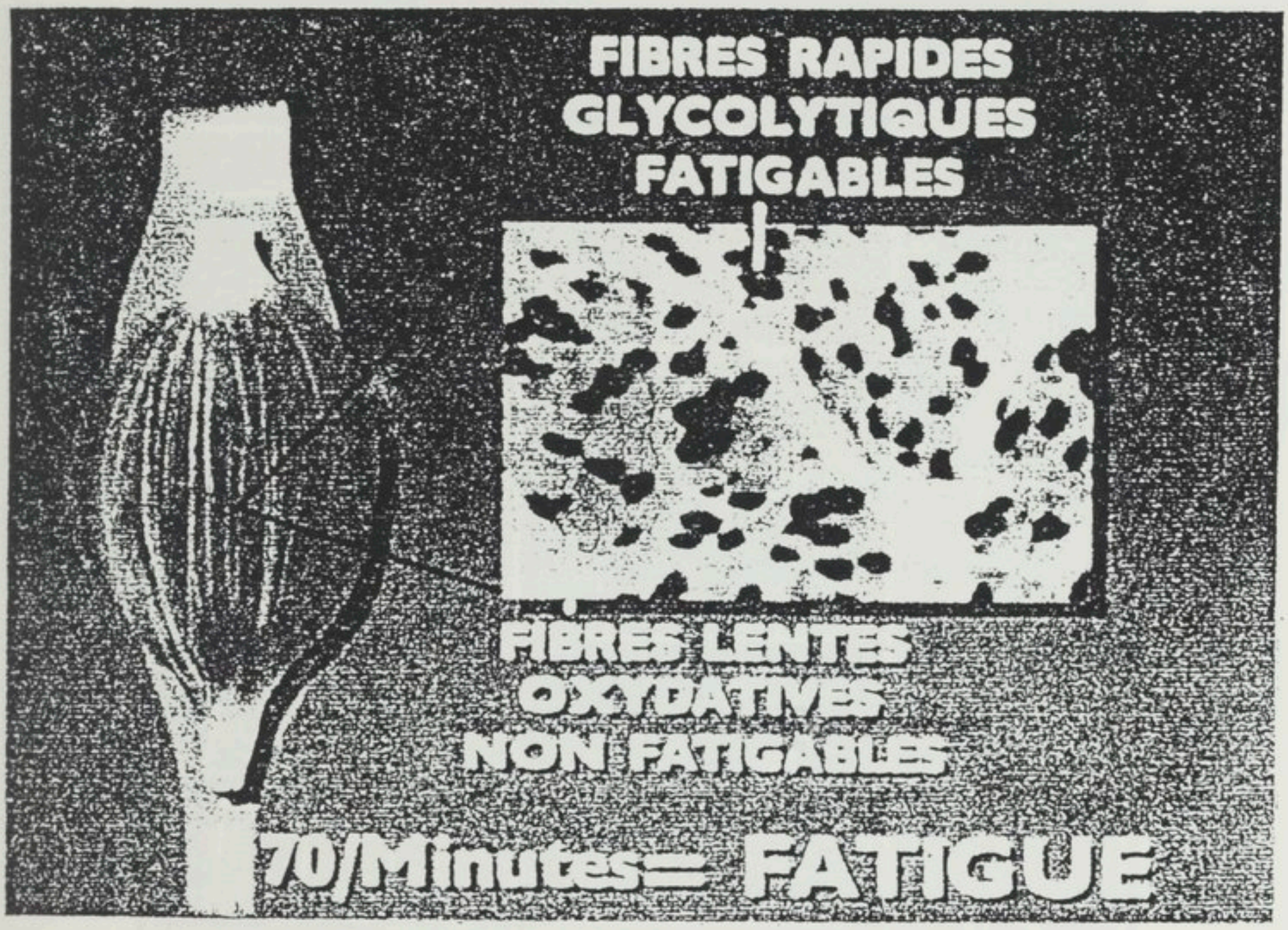



FIG. 7. — Un muscle squelettique est composé de deux contingents de fibres musculaires dites rapides et lentes. Les fibres rapides à métabolisme glycolytique rendent compte de la fatigue du muscle lorsqu'il est stimulé électriquement à une fréquence de 70/minute.

### *La stimulation séquentielle progressive*

Notre idée de départ était de stimuler électriquement le muscle, non pas d'emblée à la fréquence de 70 par minute comme le faisaient les chercheurs antérieurs, mais très progressivement avec des courants de fréquence et d'intensité croissantes sur une longue période [11]. Après plusieurs mois de tâtonnements et d'améliorations successives, cette « stimulation séquentielle progressive » permit de remplacer les fibres rapides en fibres lentes et d'obtenir, après 8 semaines, un muscle infatigable qui pouvait être alors stimulé indéfiniment à la fréquence du cœur (Fig. 8). Les variables utilisées dans ce protocole de stimulation sont les suivantes : trains d'impulsion de 2 à 30 Hz, amplitude des impulsions de 1 à 10 volts, fréquence de stimulation pouvant augmenter par paliers de 10 unités de fréquence tous les 7 jours. Après deux mois de stimulation progressive, un rythme synchrone avec le cœur peut être obtenu avec des trains d'ondes de 30Hz pour un rythme de 80 contractions à la minute, une durée d'impulsion de 187 ms et un temps de récupération de 562 ms. Les colorations acides et alcalines des adénosines triphosphatases du muscle montrèrent une transformation complète des fibres rapides en fibres lentes (Fig. 9)

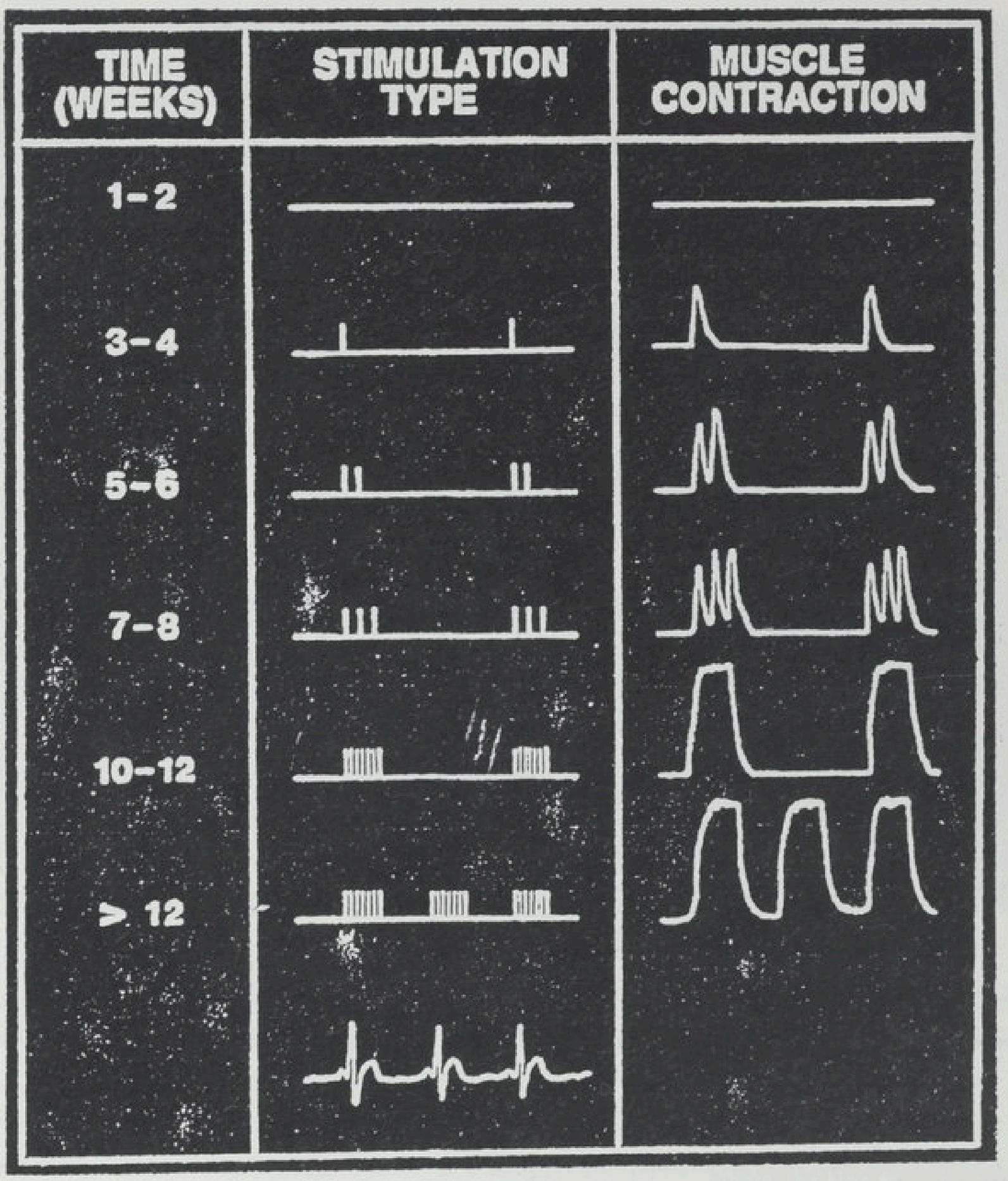



FIG. 8. — Protocole de stimulation électrique séquentielle progressive.

et l'électrophorèse une transformation complète des isoformes de type II en isoformes de type I, migrant dans les mêmes zones que la myosine myocardique (Fig. 7). L'étude électro-physiologique, enfin, montrait un phénomène de fusion des contractions du muscle conditionné à partir de trains de stimulation de 5Hz (Fig. 8).

Une fois les problèmes physiologiques et la transformation biochimique résolus, restaient le choix du muscle et la technique chirurgicale à développer [10]. Le muscle grand dorsal fréquemment utilisé en chirurgie plastique fut adopté, à cause de sa situation thoracique, de sa grande taille, de sa force contractile et de sa vascularisation et innervation unipédiculaires (Fig. 10). Transféré dans le thorax par une fenêtre créée dans la paroi thoracique par ablation de la deuxième côte, il atteint facilement le cœur et peut être utilisé comme matériau de reconstruction. Le mode d'enveloppement du cœur par le

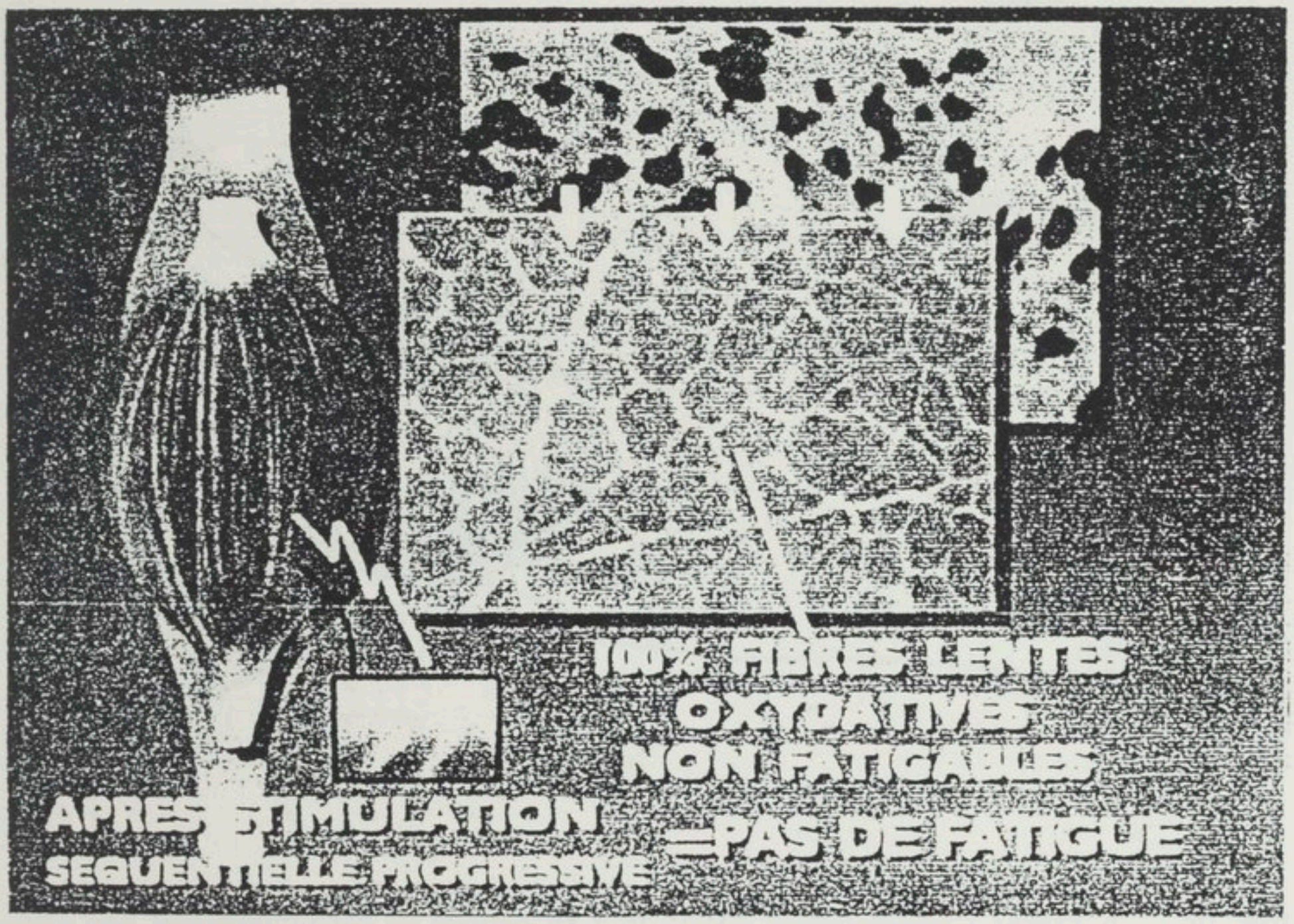



FIG. 9. — Le protocole de stimulation séquentielle progressive permet la transformation des fibres rapides fatigables en fibres lentes non fatigables.

muscle reproduit l'orientation des fibres cardiaques normales. Un cardiomyostimulateur, placé en position sous-cutanée abdominale, délivre l'excitation électrique par deux électrodes fixées au muscle. Par une électrode venue du ventricule droit, ce stimulateur reçoit l'information nécessaire à une stimulation synchrone des contractions cardiaques.

### *Du laboratoire aux applications cliniques*

La première application, chez l'homme, de cette technique, eut lieu en janvier 1985 à l'hôpital Broussais chez une jeune femme de 37 ans atteinte d'une tumeur du cœur [12]. Mourant d'envahissement ventriclaire, cette malade ne pouvait être traitée par aucune des thérapeutiques existantes. La résection de la tumeur, qui pesait 1,8 kg, laissa une perte de substance importante des deux ventricules qui put être réparée par le muscle grand dorsal gauche, préalablement disséqué et transposé dans le thorax. La malade fut gardée en soins intensifs et sous assistance respiratoire et cardiaque pendant un mois, le temps de mettre en œuvre le programme de stimulation séquentielle progressive, modifié chaque semaine par télémétrie. Elle quitta l'hôpital deux mois après l'opération. Aujourd'hui, soit dix ans plus tard, elle mène une vie normale sans

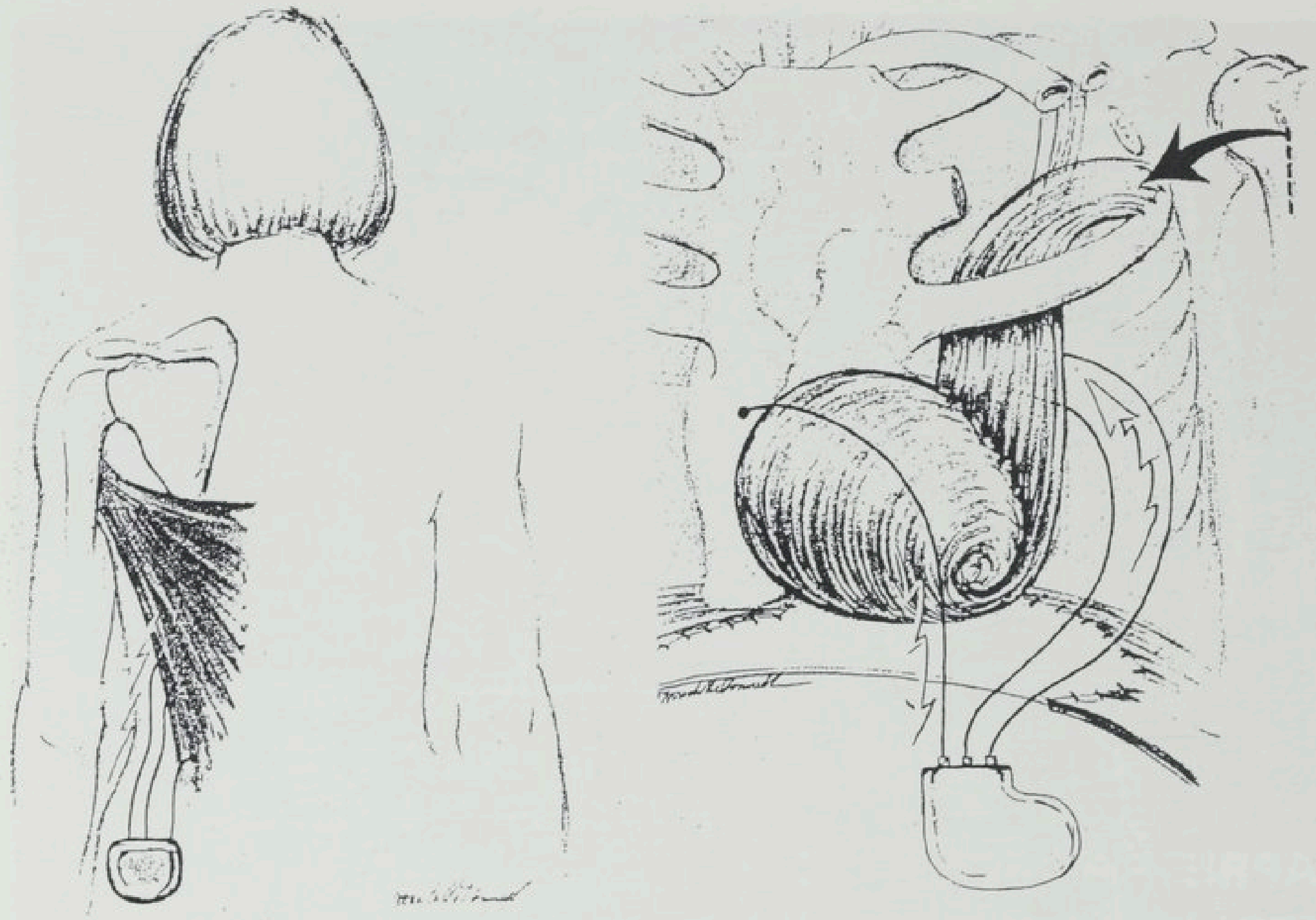


FIG. 10. — A gauche : Muscle grand dorsal droit en période de conditionnement par « stimulation séquentielle progressive ».

A droite : Cardiomyoplastie : le muscle transposé dans le thorax en préservant son pédicule vasculo-nerveux est enroulé autour du cœur. Un générateur reçoit les informations du cœur et stimule le muscle de façon synchrone.

médicament, malgré deux ablations de stimulateur pour infection de la poche sous-cutanée. Depuis ce premier cas, 83 autres malades ont été opérés par notre équipe, tandis que quelques 500 malades ont été opérés à l'étranger, confirmant nos résultats. Le muscle peut être utilisé soit pour remplacer une partie du cœur manquante après exérèse d'une tumeur ou d'un anévrysme, soit pour renforcer la contraction cardiaque. Bénéficiant de ses propres tissus, le malade n'est pas soumis aux risques et contraintes bien connus des transplantés cardiaques : réactions de rejet, infections, traitement immuno-suppresseur. Appréciée par écho-Doppler et TC Scan un à neuf ans après l'opération, l'amélioration de la contraction ventriculaire est d'environ 20 % [13]. La plupart des malades (75 %) sont améliorés cliniquement, passant d'un stade fonctionnel IV-III à un stade fonctionnel II-I. Cette amélioration de la qualité de vie semble s'accompagner également d'une amélioration de la survie, principalement chez les malades en stade fonctionnel III, si l'on se réfère à l'étude classique de Franciosa [14] (Fig. 11). Une étude plus récente de Rihal [15] portant sur des groupes de malades similaires à fraction d'éjection inférieure à 0,25 et également séparés en deux groupes de gravité (fondés ici sur le temps de décélération mitrale) donne

*Bull. Acad. Natle. Méd.*, 1996, *180*, n° 2, 363-380, séance du 13 février 1996

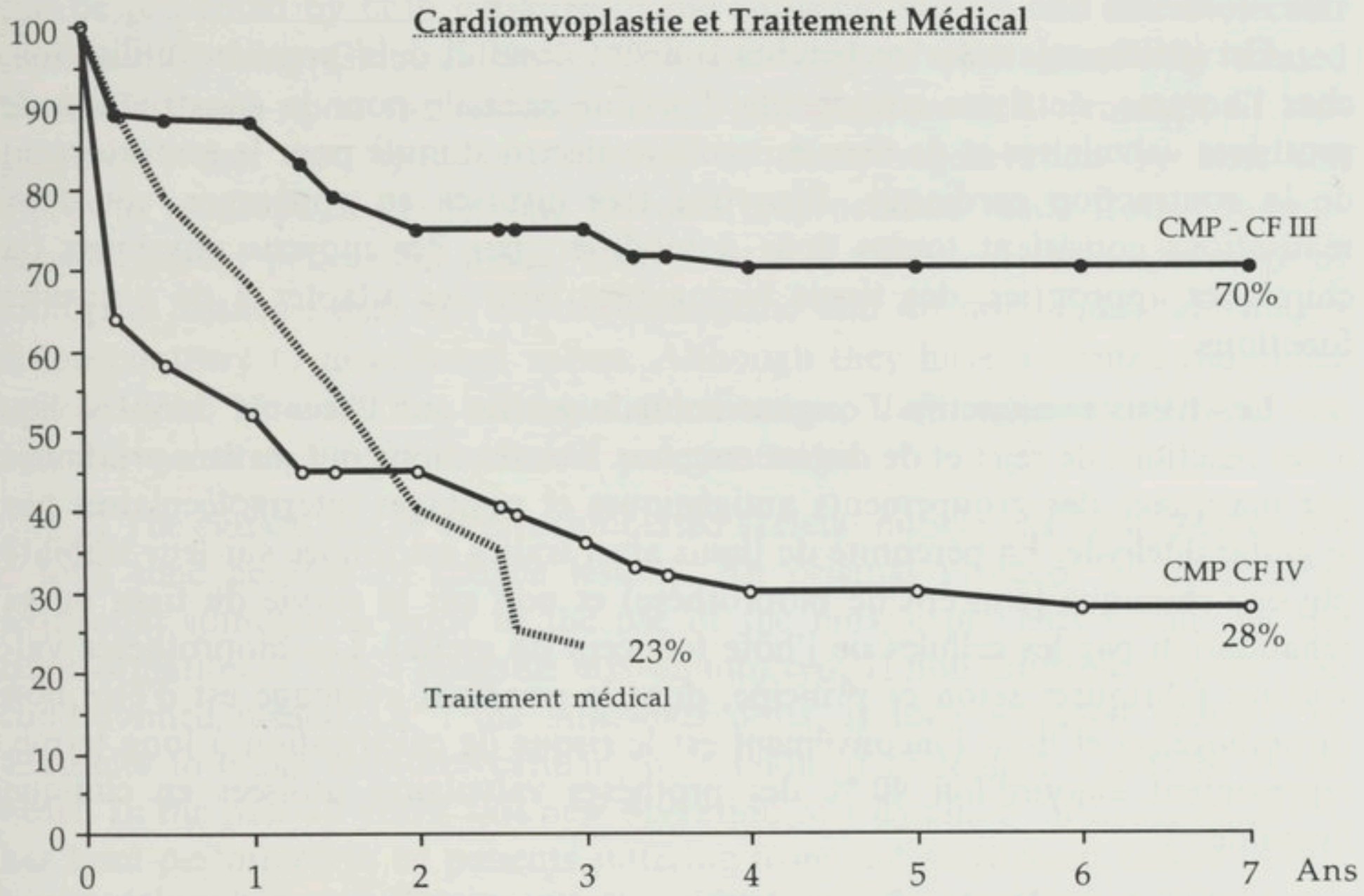



FIG. 11. — Courbe de survie des malades de l'hôpital Broussais ayant bénéficié d'une cardiomyoplastie (mortalité opératoire comprise). En pointillé, la courbe des malades traités médicalement (Réf. 14) n'est donnée qu'à titre d'indication avec toutes les réserves qu'impose une comparaison de séries non randomisées. CMP = Cardiomyoplastie. CF = classe fonctionnelle.

une survie de 60 % pour le groupe le plus favorable à 3 ans contre 75 % dans notre série, et de 35 % dans le groupe le plus défavorable contre 37 % dans notre série. Ces avantages sont quelque peu ternis par une certaine inconstance des résultats (25 % des malades, bien que stabilisés, ne sont pas améliorés) ; et aussi par le contraste entre des résultats fonctionnels souvent spectaculaires et des pressions de remplissage inchangées. Sans doute est-ce le lot de toute nouvelle technique à ses débuts et chaque année voit naître des progrès significatifs. Ainsi la cardiomyoplastie entre-t-elle progressivement dans le domaine thérapeutique où elle permet déjà, dans certains cas, d'éviter une transplantation cardiaque ou d'en repousser l'échéance, alternative précieuse dans une période où le manque de donneurs d'organes se fait de plus en plus cruellement sentir.

*Bull. Acad. Natle. Méd.*, 1996, *180*, n° 2, 363-380, séance du 13 février 1996

RÉSUMÉ

Cet article relate les recherches qui ont conduit à la première utilisation, chez l'homme, de tissus conjonctifs d'origine animale pour la construction de prothèses valvulaires et de tissu musculaire électro-stimulé pour le renforcement de la contraction cardiaque. Bien que très diverses en apparence, ces deux réalisations consistent toutes deux à modifier, par des moyens physiques ou chimiques appropriés, des tissus biologiques pour les adapter à de nouvelles fonctions.

Les tissus conjonctifs d'origine animale greffés sur l'homme donnent lieu à des réactions de rejet et de dégénérescence. Ces réactions ont pu être prévenues par masquage des groupements antigéniques et pontages intermoléculaires par le glutaraldéhyde. La pérennité de tissus ainsi traités est fondée sur leur stabilité physico-chimique (concept de bioprothèse) et non sur la survie du tissu ou sa réhabitation par les cellules de l'hôte (concept de greffe). Les bioprothèses valvulaires fabriquées selon ce principe, dont le principal avantage est d'être non thrombogènes et dont l'inconvénient est le risque de calcification à long terme, représentent aujourd'hui 40 % des prothèses valvulaires utilisées en clinique humaine.

L'utilisation de muscle squelettique électro-stimulé, pour remplacer une partie du cœur ou renforcer sa contraction, s'est heurtée longtemps au problème posé par la fatigue rapide du muscle une fois stimulé à la fréquence du cœur. La mise au point d'un protocole original de stimulation séquentielle progressive a permis d'éviter cet inconvénient en induisant le remplacement des fibres musculaires à myosine de type II fatigable en fibres musculaires à myosine de type I infatigable. Depuis la première application de cette technique de « cardiomyoplastie », chez l'homme, en 1985, 79 malades en insuffisance cardiaque terminale devenue résistante au traitement médical, à l'hôpital Broussais, et quelque 500 autres dans le monde ont été opérés avec une amélioration fonctionnelle très notable dans 75 % des cas.

MOTS-CLÉS : CHIRURGIE CARDIAQUE. PROTHÈSE VALVE CARDIAQUE. ENTRAÎNEMENT ÉLECTROSYSTOLIQUE. MATÉRIAUX BIOCOMPATIBLES. MUSCLES, transplantation.

SUMMARY : *Induced tissue transformation. Applications to cardiac surgery*

This article reports the research which led to the use of animal connective tissues in the construction of valvular prostheses and those which led to the use of electrically stimulated skeletal muscle for cardiac assistance. Although, very different at first glance these research have in common the transformation of biological tissues by physical or chemical means to adapt them to a new function.

*Bull. Acad. Natle. Méd.*, 1996, *180*, n° 2, 363-380, séance du 13 février 1996

1) Once implanted in a different species, animal connective tissues are destroyed by immunological reactions and collagen degeneration. These lesions can be prevented by both maskage of the antigenic groups and intermolecular crosslinking using Glutaraldehyde. The durability of such chemically treated tissues is based upon the stability of the biological material (concept of bioprosthesis) and not upon cell survival or tissue regeneration by host cell ingrowth (concept of graft). The valvular bioprostheses made from Glutaraldehyde treated pericardial tissue, keep after this treatment their advantage of biological tissues : they are not thrombogenic and do not require anticoagulation contrary to mechanical valves. Although they have a limited durability up to 10 to 15 years due to tissue calcification, they represent 40 % of the valvular prostheses used in clinical practice today.

2) The clinical use of electrostimulated skeletal muscle has been delayed for a long time because of fatigue lesions. An original protocol of progressive sequential stimulation prior to the use of the muscle prevents fatigue by the transformation of type I fatigable myosin into type II non fatigable myosin. The conditionned muscle i.e. : the latissimus dorsi, is then wrapped around the ventricles to either reinforce cardiac contraction or to replace a portion of the heart. In the past 10 years, this new operation of « dynamic cardiomyoplasty », has been performed in 84 patients suffering from end stage heart failure in our institution and in over 500 patients throughout the world with significant functional improvement.

KEY-WORDS (Index Medicus) : HEART SURGERY. HEART VALVE PROSTHESIS. CARDIAC PACING, ARTIFICIAL. BIOCOMPATIBLE MATERIALS. MUSCLES, transplantation.

## BIBLIOGRAPHIE

[1] CARPENTIER A. — Traitement des lésions valvulaires aortiques par des greffes hétéroplastiques. *Thèse de Doctorat en Médecine,* Paris, 1965.

[2] BINET J.P., CARPENTIER A., LANGLOIS J., DURAN C., COLVEZ P. — Implantation de valves hétérologues dans le traitement des cardiopathies aortiques. *CR Acad Sc Paris*, 1965, *261*, 5733-34.

[3] CARPENTIER A., CHANARD J.C., LAURENS P., GUERY J., HARADA H., LAURENT D., DUBOST CH. — Utilisation d'hétérogreffes aortiques dans le traitement des valvulopathies mitrales. Bases expérimentales et premier cas clinique. *Mémoires Acad. Chir. Paris*, 1967, *93*, 617-22.

[4] CARPENTIER A., DELOCHE A., PRIGENT CL., BEUZELIN J.P., LESSANA A., SALAMAGNE J.C., GUÉRIN L., DAHAN M., BEDRANE Z., CARPENTIER S., BARON M., MACHER J.P., DUBOST CH. — Utilisation de biopolymères dans la construction de prothèses valvulaires cardiaques. *CR Acad Sc Paris*, 1971, *272*, 178-79.

[5] CARPENTIER A. — Le Concept de Bioprothèse. Application à la réalisation d'organes artificiels. Thèse de Doctorat *ès* Sciences, Orsay, 1975.

[6] Carpentier A., Lemaigre G., Robert L., Carpentier S., Dubost Ch. — Biological factors affecting long-term results of valvular heterografts. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1969, *58*[4], 467-83.

[7] Carpentier A., Nashef A., Carpentier S., Ahmed A., Goussef N. — Techniques for prevention of calcification of valvular bioprostheses. *Circulation*, 1984, *70* (suppl.I), I-165-I-168.

[8] Shen M., Farge D., Daudon M., Carpentier S., Pellerin M., Lacour B., Chen L., Martinet B., Carpentier A. — Proteins are associated with the onset and progression of calcification in Glutaraldehyde-preserved porcine aortic valve leaflets implanted subcutaneously in rats. *Circulation*, 1995 (sous presse).

[9] Leriche R., Fontaine R. — Essai expérimental de traitement de certains infarctus du myocarde et de l'anévrysme du cœur par une greffe de muscle strié. *Bull Soc Nat Chir.*, 1933, *59*, 229.

[10] Eisenberg B.R., Salmons S. — Reorganisation of subcellular structure in muscle undergoing fast-to-slow type transformation : a stereological study. *Cell Tiss Res.*, 1981, *220*, 449.

[11] Carpentier A., Chachques J.C., Grandjean P.A., Perier P., Mitz W., Bourgeois I. — Transformation d'un muscle squelettique par stimulation séquentielle progressive en vue de son utilisation comme substitut myocardique. *CR Acad Sci Paris*, 1985, *301*, III[11], 581-86.

[12] Carpentier A., Chachques J.C. — Myocardial substitution with a stimulated skeletal muscle. *Lancet*, 1985, *8440*, 1267.

[13] Chachques J.C. — Postoperative evaluation of cardiomyoplasty patients. *In* Carpentier A., Chachques J.C, Grandjean P.A, Edit : Cardiomyoplasty. Futura Publishing Company Inc Publ. Mount Kisco, *NY, USA*, 1991, 153-159.

[14] Franciosa J.A., Wilen M., Zieschе S., Cohn J.N. — Survival in men with severe chronic left ventricular failure due to either coronary heart disease or idiopathic dilated cardiomyopathy. *Am J Cardiol*, 1983, *51*, 831-836.

[15] Rihal C.S., Nishimura R.A., Hatle L.K., Bailey K.R., Tajik A.J. — Systolic and diastolic dysfunction in patients with clinical diagnosis of dilated cardiomyopathy. Relation to symptoms and prognosis. *Circulation*, 1994, *90*, 2772-2779.

## DISCUSSION

M. Yves Grosgogeat : 1) Sous quelle stimulation, le muscle squelettique acquiert-il l'aspect histologique et ultra-structural du muscle cardiaque ? 2) Ces modifications biochimiques et structurales sont-elles réversibles ? 3) Quelles sont les indications idéales de la cardiomyoplastie ?

M. Pierre Maurice : En fonction des résultats obtenus depuis 1985 par la cardiomyoplastie est-il possible, à l'heure actuelle, de prévoir l'épuisement progressif du muscle implanté ?

M. Maurice Mercadier : Puis-je vous demander de nous fournir des données numériques précises concernant les transplantations valvulaires en fonction des indications qui les ont motivées.

M. André THOMAS : Si l'on cultive les myocytes physiologiquement transformés, y a-t-il préservation de la structure musculaire, ou obtient-on des fibrocytes ?

M. Roger NORDMANN : Pourriez-vous nous donner quelques détails sur la technique d'électro-stimulation dont vous avez montré l'intérêt en chirurgie cardiaque. Ma question, certainement naïve, étant de savoir si l'on peut imaginer que, plutôt que de recourir à des méthodes de dopage, les athlètes puissent améliorer leurs performances sportives en rendant certains de leurs muscles moins fatigables par électro-stimulation préalable.

M. François-Bernard MICHEL : Avez-vous rencontré des difficultés techniques, à court, ou surtout à long terme, avec le système de stimulation électrique du muscle grand dorsal et particulièrement au point d'insertion de l'électrode ?

M. CARPENTIER : — à M. Grosgogeat : 1) Aspect histo-enzymatique oui, aspect ultra structural non. Le muscle squelettique ne devient pas un syncytium, mais ses fibres glycolytiques se transforment en fibres oxydatives résistantes à la fatigue comme le sont les fibres cardiaques. 2) Les modifications histo-enzymatiques sont réversibles en quelques jours lorsque l'on arrête la stimulation. 3) Les indications idéales sont les insuffisances cardiaques sévères mal compensées par le traitement médical, et cependant pas sévères au point de nécessiter une transplantation cardiaque ou un appareil d'assistance. Le but de l'opération est d'améliorer les capacités fonctionnelles du malade, de réduire l'importance du traitement médical et le nombre d'hospitalisation, de stopper l'évolutivité de la dilatation ventriculaire.

— à M. Maurice : Après plus de dix ans de fonctionnement, le muscle stimulé se contracte encore de façon satisfaisante. Il ne semble pas qu'il y ait épuisement progressif.

— à M. Mercardier : Je n'ai pu, dans les contraintes de temps imposées, faire mieux que de présenter trois courbes actuarielles de résultats à long terme. Ces courbes montrent qu'à dix ans, le taux d'altération des bioprothèses dépend de l'âge des malades opérés. Dans l'ensemble, au-delà de cinquante ans d'âge, 80 % des valves continuent de fonctionner de façon satisfaisante, alors que, en deçà de trente-cinq ans seulement, 20 % des valves passent le cap des dix ans. Les indications actuelles tiennent donc compte de l'âge du malade et du rythme cardiaque sinusal qui permet, avec ces valves, de se passer d'anticoagulants.

— à M. Thomas : Les myocytes cardiaques cultivés font l'objet, actuellement, de recherches importantes pour tenter de les injecter dans des zones ischémiques ou nécrotiques du myocarde. Leur structure est conservée mais il est trop tôt pour juger de leur devenir à long terme, c'est-à-dire au-delà des délais de quelques semaines dont nous disposons.

— à M. Nordmann : Il est connu que l'électro-stimulation favorise le développement musculaire et, selon le type de stimulation, la contraction lente ou la contraction rapide. Pour les sportifs, l'entraînement est supérieur à ces artifices. Quant aux méthodes de dopage, nous avons essayé de les utiliser pour renforcer le nombre, le volume et si possible la force contractile des fibres. Les résultats ont été décevants.

— à M. Michel : Non il n'y a pas eu de difficulté particulière. Même à long terme il n'y a pas de réactions fibreuses délétères du muscle au contact des électrodes. Les seuils de stimulation n'augmentent pas sensiblement avec le temps et ce, jusqu'à dix ans.

*Bull. Acad. Natle. Méd.*, 1996, *180*, n° 2, 381-395, séance du 13 février 1996

# L'assistance mécanique ventriculaire portable

Daniel LOISANCE *, Denis TIXIER, Christophe BEAUFRETON,
Philippe DELEUZE, Jean-Philippe MAZZUCOTELLI,
Paul LE BESNERAIS, Walid DIHMIS, Frédéric POUILLART,
Christophe BENVENUTI

Dès le début des années 1970, au moment même où les difficultés du contrôle du rejet conduisaient la majeure partie des centres à interrompre leur activité, Peer Portner, ingénieur dans le groupe de Norbert Shumway, introduisait le concept d'assistance ventriculaire gauche permanente, alternative à la transplantation dans le traitement de l'insuffisance cardiaque incontrôlable médicalement. Dix ans plus tard, une première version du système était testée dans une stratégie d'attente de la transplantation : un ventricule gauche prothétique implanté, piloté par une console paracorporelle. Depuis, le concept de l'assistance mono-ventriculaire gauche, dans la prise en charge d'une défaillance bi-ventriculaire, a été validé [1]. De nombreux développements technologiques sont intervenus, permettant en mars 1993, dans le Service, la première implantation mondiale d'un système de seconde génération, le système Baxter-Novacor portable : la miniaturisation des éléments du système d'activation et de contrôle permet un ensemble portable à la ceinture ou en bandoulière. Un pas de plus vers le système totalement implanté est franchi.

Parallèlement au développement de ce programme à Stanford, divers autres systèmes d'assistance circulatoire, reposant sur des principes différents, ont été introduits en clinique humaine [2] et utilisés à l'hôpital Henri Mondor : le système Jarvik et l'assistance externe, utilisant des ventricules pneumatiques en 1982, la turbine intracardiaque en 1989, notamment. Cette grande variété de système avait l'objectif limité de l'attente d'une transplantation.

L'un des objectifs que s'est assigné notre groupe a été l'évaluation, au sein de l'Unité CNRS, des problèmes techniques, et au sein du Service, des problèmes cliniques posés par l'introduction en clinique humaine de ce type de technologie. L'étude des procédures de sélection des candidats à l'assistance

---

* Service de Chirurgie Thoracique et Cardiovasculaire, Unité Médico-Chirurgicale de Transplantation Cardiaque J.P. Cachera, Equipe Association Claude Bernard et C.N.R.S. URA 1431 « Thérapeutiques Substitutives du Cœur et des Vaisseaux », C.H.U. Henri Mondor, 51, avenue du Maréchal de Lattre de Tassigny - 94000 Créteil, France. - Tél. (33) 1 49 81 35 51 — Fax (33) 1 49 81 35 52.

*Tirés-à-part* : Professeur Daniel LOISANCE, à l'adresse ci-dessus.
*Article reçu le 28 juillet 1995, accepté le 9 octobre 1995.*

circulatoire [3] du choix du système optimal dans des indications bien précises [4] a longtemps été au centre de nos travaux.

Les premières observations cliniques d'utilisation du système Baxter-Novacor portable font l'objet de cette communication.

## Description du système

La configuration actuelle (Fig. 1) du système Baxter-Novacor comprend : une pompe ventriculaire, implantée dans l'épaisseur de la paroi abdominale, du côté gauche, les connecteurs ventriculaires gauche et aortique, porteurs de valves, donnant à la dérivation ventriculo-aortique un écoulement unidirectionnel, un câble, traversant la peau après tunnelisation sous-cutanée, au niveau de l'hypochondre droit, réunissant la pompe à l'ensemble contrôleur-batteries. Cet ensemble, initialement volumineux, contenu dans une console para-corporelle encombrante, difficilement déplaçable (Novacor de 1re génération) est désormais miniaturisé et portable en bandoulière ou à la ceinture (Novacor 2e génération). Il sera, dans un proche avenir, davantage miniaturisé et implantable.

Chacun des éléments du système peut être décrit :

- La pompe est constituée par un sac en polyuréthane lisse, muni de deux orifices. Ce sac voit son volume modifié par l'action de 2 plateaux, eux-mêmes actionnés par des bras (Fig. 2). Ces bras sont mobilisés par l'action d'un électro-aimant, activé par le courant électrique. L'ensemble est encapsulé dans une enceinte rigide recouverte de silicone, mesure 16 cm de long, 13 cm de large, 6 cm d'épaisseur et pèse 850 grammes (Fig. 3).
- Chacun des deux orifices est porteur d'une valve. Dans le modèle actuellement utilisé, la valve est portée dans un conduit métallique. Elle est de type biologique (heterogreffe Edwards porcine jusqu'en 1993, bovine depuis). A ce conduit valvé sont connectées 2 prothèses vasculaires, en Dacron imprégné de collagène. L'un de ces conduits (13 cm de long) est connecté au ventricule gauche, après résection d'un cône apical et fixation à un anneau textile : il constitue le conduit de décharge ventriculaire gauche. Le second conduit (50 cm de long, 21 mm de diamètre), fixé après anastomose termino-latérale sur l'aorte ascendante, joue le rôle de conduit d'éjection de la prothèse ventriculaire (Fig 4).
- Le contrôleur, porté à la ceinture, est l'ensemble comprenant l'activateur de l'électro-aimant, les processeurs recueillant les informations clés : position de l'électro-aimant d'où se calcule le volume du sac ventriculaire, et les éléments de régulation : déclenchement de la systole prothétique, synchrone ou non à l'activité cardiaque native, lorsque le ventricule prothétique est totalement rempli ou non, à une fréquence imposée ou non. Au total, le contrôleur assure au fonctionnement de la pompe une large plage de débit sanguin, variant selon les conditions de 3 à 9 litres/minute.

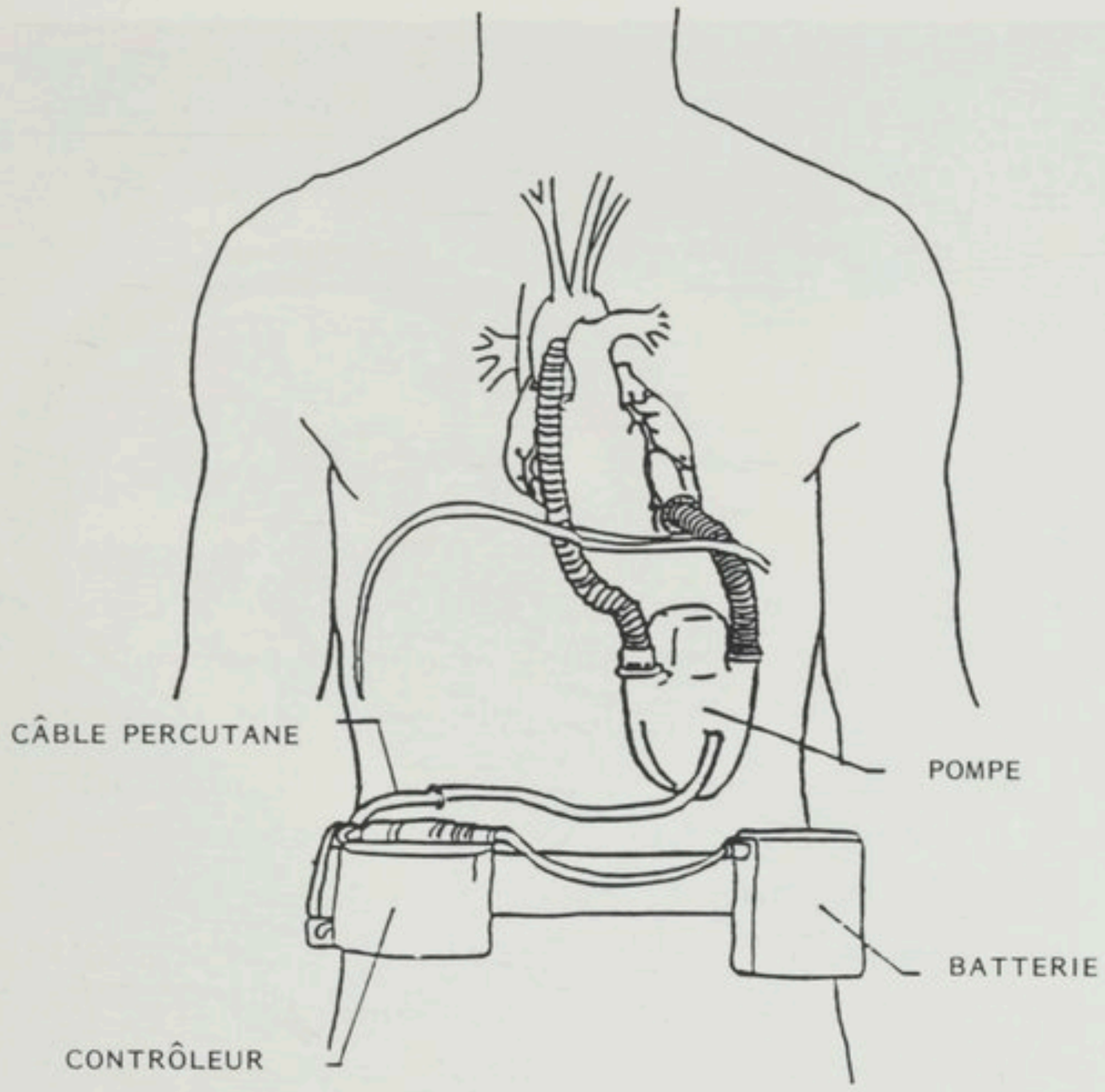



PHOTO 1. — Représentation schématique du système Novacor LVAS N 100 portable. Les batteries et le contrôleur sont les seuls éléments extracorporels.

- Les batteries possèdent une autonomie de 4 heures en mode de fonctionnement normal. Un système d'alarme annonce le temps utile résiduel, et comprend une réserve séparée autorisant 1 heure de fonctionnement supplémentaire de la pompe.
- L'ensemble pompe-contrôleur peut, lorsque le patient ne souhaite pas se déplacer, être connecté à une station fixe, comprenant un ordinateur. Celui-ci enregistre chaque battement de la prothèse, toutes les caractéristiques de fonctionnement de l'électro-aimant, et dispose de nombreux systèmes d'alarme.
- Enfin, la station fixe comprend un chargeur permettant la réactivation simultanée de 3 batteries.

Notons, enfin, que l'ensemble se caractérise par la multiplicité des sécurités autorisant une fiabilité considérable de chacun des éléments (2 ans de fonctionnement de chaque élément de 20 systèmes, en fonctionnement continu, sur modèle *in vitro*).

## PROTOCOLE CLINIQUE

Le but de l'assistance par Novacor est, dans notre groupe, l'attente, éventuellement prolongée des mois, dédramatisée de la transplantation cardiaque. Le protocole s'adresse aux patients en choc cardiogénique. L'expérience, acquise

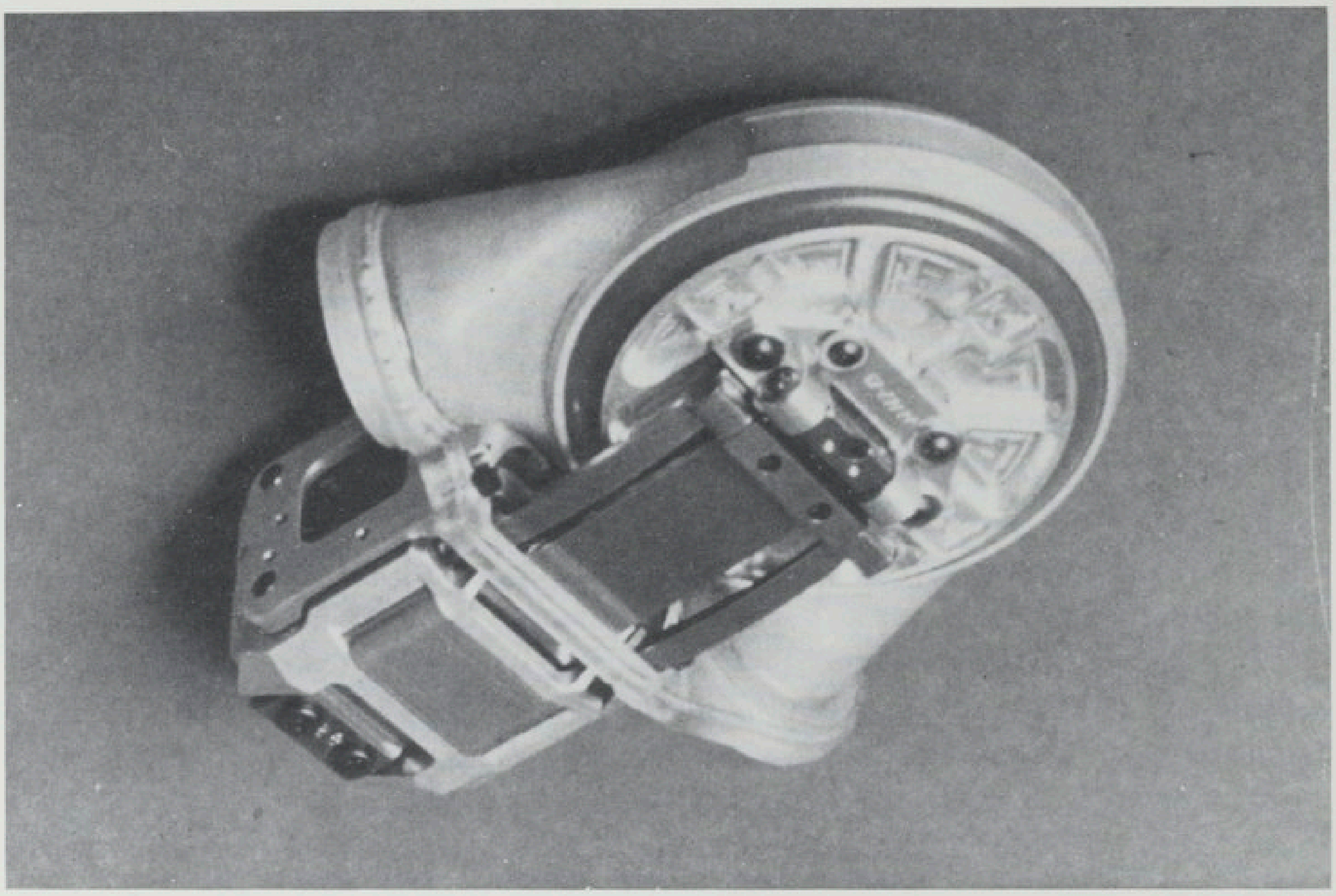


PHOTO 2. — La pompe ventriculaire Novacor, un solénoïde, active deux bras métalliques qui écrasent un sac ventriculaire souple.

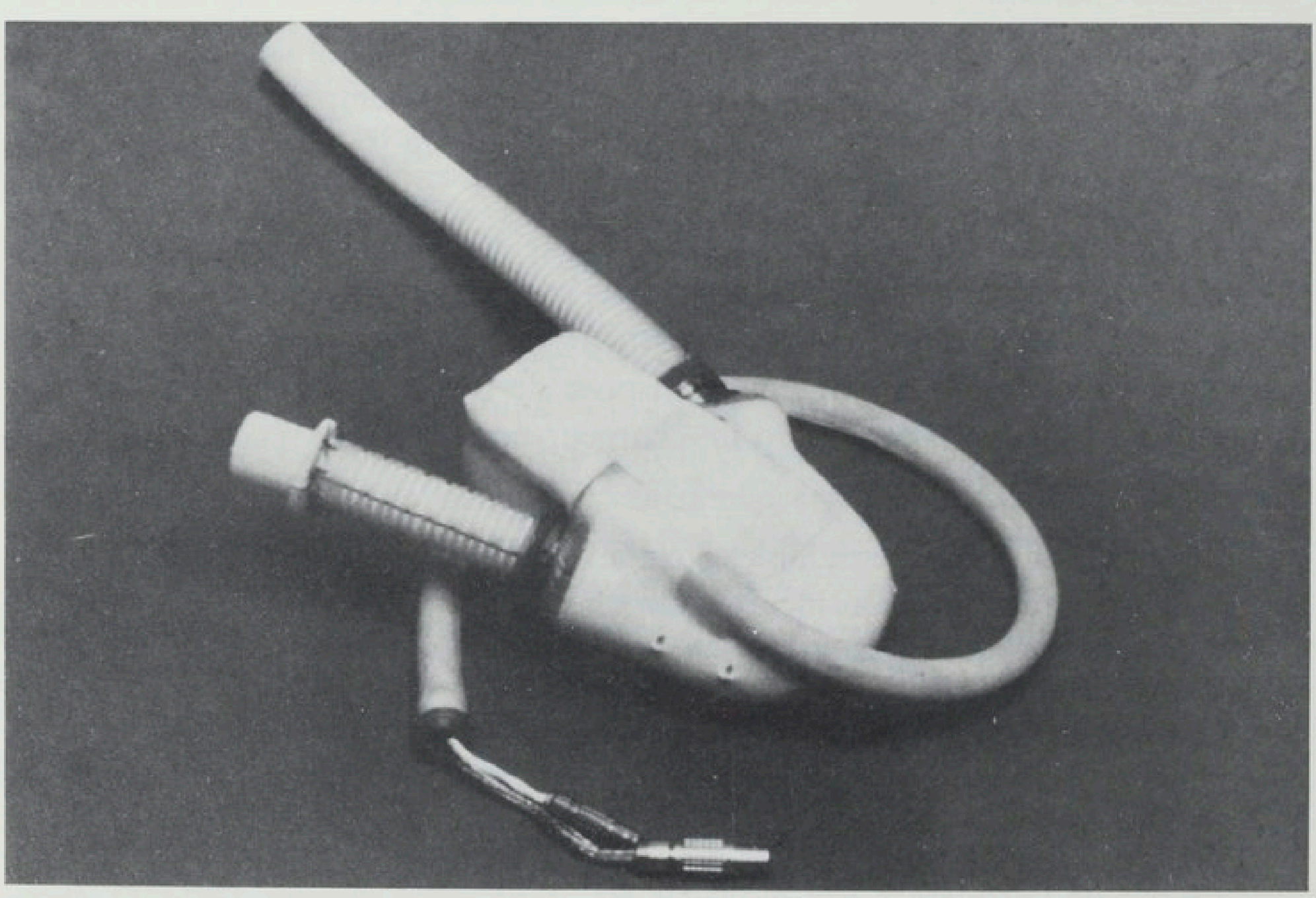


PHOTO 3. — Photo de la prothèse ventriculaire, prête à l'implantation. La pompe est encapsulée dans une enceinte étanche. Les prothèses artérielles permettent les connections au ventricule gauche et à l'aorte ascendante.

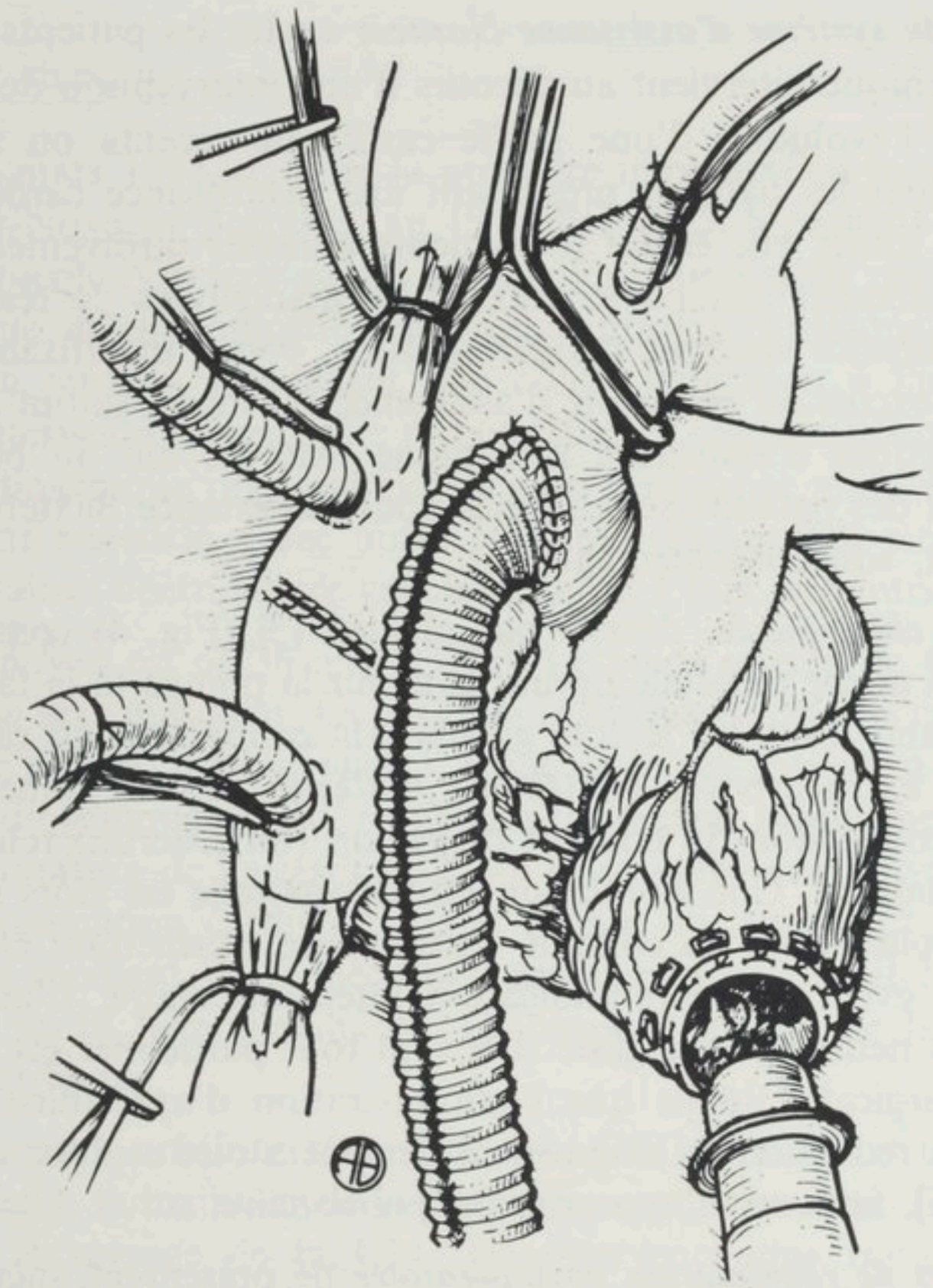


PHOTO 4. — Représentation schématique des connections du système d'assistance ventriculaire. L'apex du ventricule gauche est excisé, permettant la connection de l'admission à la pompe. Une prothèse artérielle ramène vers l'aorte le débit sanguin, activé par la pompe.

depuis 1984 dans la prise en charge de ces patients et dans l'évaluation des divers systèmes d'assistance mécanique de la circulation, a permis de définir le protocole d'utilisation du système Novacor, décrit ci-dessous. Il comprend diverses procédures successives à mettre en œuvre chez les patients candidats à une transplantation cardiaque en urgence :

- ***La sélection des candidats à l'assistance circulatoire mécanique*** intervient chez les patients présentant une cardiomyopathie aiguë, compliquée d'un choc cardiogénique, défini par des critères hémodynamiques stricts, résistant au traitement médicamenteux optimal [3], ne présentant aucune contre-indication à la réalisation d'une transplantation (âge < 65 ans, absence de pathologie infectieuse ou néoplasique évolutive, absence de contre-indication à l'immunosuppression, bonne compliance médicamenteuse) et une impossibilité de transplantation immédiate, faute de greffons.

- ***La sélection du système d'assistance Novacor*** exclut les patients dont l'état de choc cardiogénique intervient au décours d'une intervention de chirurgie cardiaque, dans l'évolution d'une greffe cardiaque récente ou ancienne. Elle exclut également les patients présentant une insuffisance cardiaque à dominante droite. Enfin, elle exclut les patients adressés tardivement, présentant, malgré le traitement médicamenteux et les manœuvres de réanimation, des signes de déchéance viscérale majeure (anurie, coma, insuffisance hépatique). Ces patients, exclus du protocole d'assistance Novacor, seront pris en charge par les techniques d'assistance mécanique externe, uni ou bi-ventriculaire. Enfin, chacun des patients sélectionnés pour l'assistance Baxter-Novacor précise, par écrit, son consentement.

- ***La technique chirurgicale***, décrite par ailleurs [5] (Fig. 4) comprend la préparation de la poche pariétale devant contenir la pompe (à la face postérieure du muscle grand droit sur le côté gauche), la connection du câble percutané à l'ensemble extracorporel contrôleur batteries (après tunnelisation sous-cutanée), la connection du conduit d'éjection (un Dacron) reliant la pompe à l'aorte ascendante. Une circulation extra-corporelle est alors mise en place, facilitant l'implantation du conduit ventriculaire, permettant en outre la fermeture d'une éventuelle communication inter-auriculaire. L'intervention est conduite sous neurolept-analgésie. Un soin tout particulier est donné à l'hémostase chirurgicale, tandis que l'administration d'aprotinine à forte dose contribue à la réduction du saignement per-opératoire et donc des besoins en transfusion [6], facteurs d'hypertension pulmonaire.

- ***Les procédures de réanimation postopératoire*** ne présentent aucune particularité. Une attention constante est portée au contrôle de la volémie, à la qualité de la ventilation. Le sevrage en agents inotropes intervient progressivement, sous contrôle des paramètres de la fonction ventriculaire droite. Le premier lever intervient après retrait des drains thoraciques et médiastinaux, la sortie de l'unité de soins intensifs, après sevrage des drogues. A ce stade, le traitement se résume à un traitement anticoagulant par anti-vitamine K, couplé à un traitement anti-agrégant par Aspirine.

- ***La rééducation commence le plus tôt possible.*** Elle est très progressive, comprenant la réacquisition de la marche, des déplacements autonomes. Le patient est alors entraîné à la surveillance de sa machine : contrôle du niveau de charge des batteries, changement des batteries, connection à la console de surveillance... Parallèlement, l'entraînement à l'effort et la musculation sont intensifiés. Les progrès sont suivis par des tests d'efforts repétés, avec mesure de la consommation maximale en oxygène. Après 3 à 4 semaines, les possibilités d'un retour à domicile sont évaluées. Le contexte social et familial prend, dans cette enquête, une dimension importante. L'inscription sur la liste d'attente de la transplantation tient compte de la qualité de la rééducation, de la qualité de vie et des souhaits du patients, de la survenue d'incidents faisant craindre une complication majeure, infectieuse ou thrombo-embolique.

*Bull. Acad. Natle. Méd.*, 1996, *180*, n° 2, 381-395, séance du 13 février 1996

## Expérience clinique

Depuis mars 1993, date de la première implantation mondiale d'un système Baxter-Novacor portable, au 1er juillet 1995, 6 patients ont été retenus dans le protocole Novacor parmi 19 candidats potentiels présentant un choc cardiogénique, et une indication de transplantation cardiaque urgente. Les 13 patients non retenus, présentant une contre-indication à l'implantation du Novacor (intervention cardiaque récente chez 2, greffe cardiaque récente chez 1, choc cardiogénique primaire évolué avec déchéance multiviscérale avancée chez 10), ont bénéficié d'une autre modalité d'assistance circulatoire mécanique (dérivation ventriculaire gauche externe 3 fois, bi-ventriculaire 10 fois).

L'âge moyen est de 36 ans [23-45]. Le poids moyen de 66 kilos [54-78]. Tous sont du sexe masculin. La pathologie cardiaque est une cardiomyopathie idiopathique chez 5, toxique chez 1. Chacun de ces patients a été admis pour un choc cardiogénique sévère, rebelle au traitement médicamenteux. La décision d'implantation de l'assistance a été prise après une moyenne de 7 jours (4-14) en réanimation cardiologique et l'échec du traitement médicamenteux optimal. Au moment de la décision, aucun patient n'était sous ventilation assistée ; le profil hémodynamique (Tableau I) atteste de la sévérité de la condition cardiaque.

L'intervention, réalisée chez tous sous CEC, a compris un arrêt cardioplégique chez 4, le maintien de la perfusion coronaire cœur fibrillant chez 2. Chez tous, le sevrage de la CEC est intervenu sous traitement inotrope modéré (Dobutamine 10γ/kg/min Dopamine : 0, Perfane = 0), en baisse considérable par rapport aux posologies préopératoires (Dobu 20, Dopa 15, Perfane 2 mg/kg).

Les suites opératoires ont été tout à fait superposables chez les 6 patients : stabilisation hémodynamique dès les premières heures (Tableau I), avec normalisation progressive des fonctions pulmonaires rénales, hépatiques. Le débit d'assistance s'élève progressivement de 4,5 l/min à 6,5 l/min. La durée moyenne du séjour en réanimation a été de 12 jours (8-20). La reprise de la marche spontanée est intervenue en moyenne au 11e jour (8-15). Les trois premiers patients n'ont quitté l'hôpital que pour des périodes de quelques heures. Les trois plus récents ont, après formation au fonctionnement du système, été autorisés à reprendre, au domicile, une vie normale. Un patient vit actuellement chez lui depuis 2 mois, dans l'attente sereine d'une transplantation, plus préoccupé par un changement de domicile que par la transplantation à venir. Le contrôle de l'anticoagulation et les diverses évaluations (performance à l'effort, tests de qualité de vie, doppler trans-crânien) sont réalisés au cours d'un bref séjour hospitalier, hebdomadaire.

Pendant la période d'assistance, les complications directement imputables à la technique ont été observées :

TABLEAU I. — Profil hémodynamique, avant l'implantation, sous traitement médicamenteux maximal et 48 heures après l'implantation.

| | **Pré-implantation*** | **Après 48 heures** |
|---|---|---|
| Index cardiaque (L/min/m²) | 1.6 ± 0.4 | - |
| Débit d'assistance (l/min) | - | 6.2 ± 0.6 |
| Pression aortique moyenne (mmHg) | 76 ± 7 | 97 ± 13 |
| Pression pulmonaire moyenne (mmHg) | 34 ± 8 | 22 ± 6 |
| Pression capillaire moyenne (mmHg) | 29 ± 7 | 15 ± 2 |
| Pression oreillette droite (mmHg) | 22 ± 5 | 14 ± 6 |

* sous traitement inotrope maximal (voir texte)

— épanchement péricardique avec tamponnade, et réduction du débit d'assistance chez 3 imposant un drainage, sous anesthésie locale, au 9e jour en moyenne [5-13],
— épanchement hématique autour de la pompe chez 5 au 14e jour en moyenne [8-23],
— accident ischémique cérébral transitoire (dysarthrie pendant 3 minutes) chez un patient en fibrillation auriculaire, au 22e jour,
— complications infectieuses, mineures chez 3, avec contamination bactérienne vite résolutive de la loge de la pompe, au 19e, 27e et 97e jour, contrôlée par soins locaux et antibiothérapie générale, majeure chez un avec endocardite sur la prothèse valvulaire d'admission par *Aspergillus* imposant le remplacement chirurgical de cet élément du système, l'administration prolongée d'amphotéricine B encapsulée (Ambisome*).

La transplantation est intervenue de plus en plus tardivement, en moyenne après 100 jours d'assistance (58-169). Les suites opératoires ont été simples pour tous sauf un, chez qui un hémothorax récidivant a imposé 3 ré-interventions. A distance de la greffe, 4 patients vivent normalement, 2 ayant repris leur activité professionnelle. Un patient est décédé après 3 mois, d'une infection à *Aspergillus*.

Au total, les résultats obtenus montrent qu'une alternative à la transplantation cardiaque urgente, non réalisable faute de greffons, est désormais accessible. La qualité de vie des patients, la possibilité d'une attente hors du milieu

hospitalier confirment les espoirs placés dans cette modalité de prise en charge de la fonction cardiaque et suggèrent qu'un pas supplémentaire, vers l'assistance permanente a été franchi.

## Commentaires

La démonstration de l'intérêt de l'assistance ventriculaire gauche implantée intervient à un moment crucial, marqué, à la fois, par une certaine désillusion vis-à-vis des autres techniques d'assistance mécanique, et par une pénurie croissante d'organes.

Certes l'assistance circulatoire mécanique, par ventricules para-corporels ou à l'aide de ventricules orthotopiques à commande pneumatique, utilisée depuis 1982, s'est avérée être très efficace pour corriger les désordres métaboliques et viscéraux liés au choc cardiogénique [2]. Cependant, ces techniques, très invasives, n'ont pas permis une totale dédramatisation de l'attente de la transplantation. Seulement 8 des 10 patients traités, dans le Service, dans la même période par assistance bi-ventriculaire externe pneumatique ont, en réalité, pu être greffés et ce toujours dans un contexte d'urgence, après 13 jours en moyenne d'assistance (1-32). De plus, la qualité de la vie d'un patient sous assistance externe ou sous Jarvik est d'un niveau tel que la poursuite de l'assistance au-delà de quelques semaines constitue, pour le patient et pour l'équipe soignante, une véritable épreuve (Fig. 5). L'absence d'autonomie, la difficulté de la mobilisation gênent une véritable réhabilitation physique et interdisent une vie normale. Le risque infectieux lié aux nombreux orifices cutanés au nombre de quatre, et au maintien en milieu hospitalier constitue en outre un risque majeur de la détérioration secondaire. La greffe reste donc urgente et l'attribution d'une priorité particulière à un patient sous assistance, au détriment d'un patient en attente à domicile, constitue un problème délicat à résoudre, tant sur le plan pratique que éthique. Ainsi, la crainte chez un patient en choc cardiogénique de générer, par le choix d'un système d'assistance externe, une situation complexe, intervient de façon croissante, dans la décision, conduisant, *in fine*, à réduire les chances de succès.

Dans le même temps, la pénurie d'organes s'est accrue. Le déficit en greffon cardiaque va croissant depuis 1990 : le nombre de patients ne pouvant attendre la greffe atteint 17 % des patients chez qui la greffe est souhaitable. De plus, l'accès à la transplantation devient si aléatoire que bon nombre de patients en insuffisance cardiaque sévère, chez qui la transplantation est souhaitable, sont maintenus sous traitement médicamenteux et adressés finalement plus tard, trop tard, au groupe de transplantation, au stade terminal ou à l'occasion d'une décompensation aiguë. Quant à la possibilité d'obtention rapide d'un greffon, elle est devenue exceptionnelle, notamment depuis la disparition de la notion de « super urgence » dans la liste d'attente.

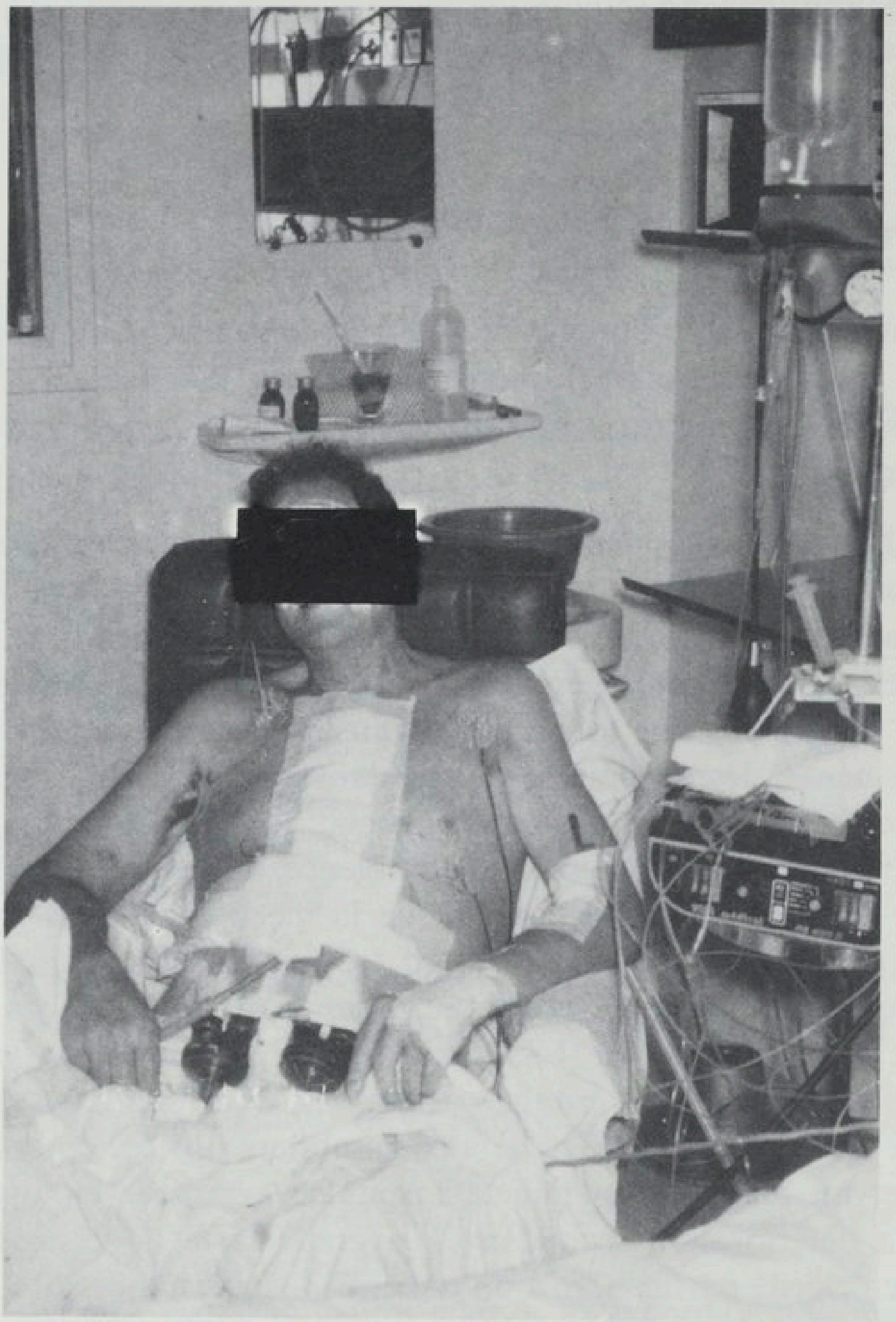


PHOTO 5. — Assistance bi-ventriculaire externe, le patient est rivé à sa machine, peu déplaçable, en réanimation

L'expérience récemment acquise avec le système Novacor est, dans ce contexte, particulièrement intéressante. Les problèmes observés avec les autres techniques d'assistance, tenant à l'absence d'autonomie du patient, sont atténués (Fig. 6). La qualité de vie des patients et la possibilité d'un retour au foyer transforment totalement les modalités de l'attente de la greffe. Les facteurs limitant la durée de l'attente tiennent désormais, non pas tellement à la gêne liée à la présence d'un câble percutané et d'un contrôleur portable, non pas curieusement au niveau sonore peut être excessif du fonctionnement de la pompe, qu'à l'appréhension d'une intervention à réaliser et d'un nouveau séjour en réanimation. La crainte du risque infectieux et thrombo-embolique est largement compensée par le souvenir de la détresse générale récente, et surtout par la crainte de l'immunosuppression et du rejet à venir.

*Bull. Acad. Natle. Méd.*, 1996, *180*, n° 2, 381-395, séance du 13 février 1996

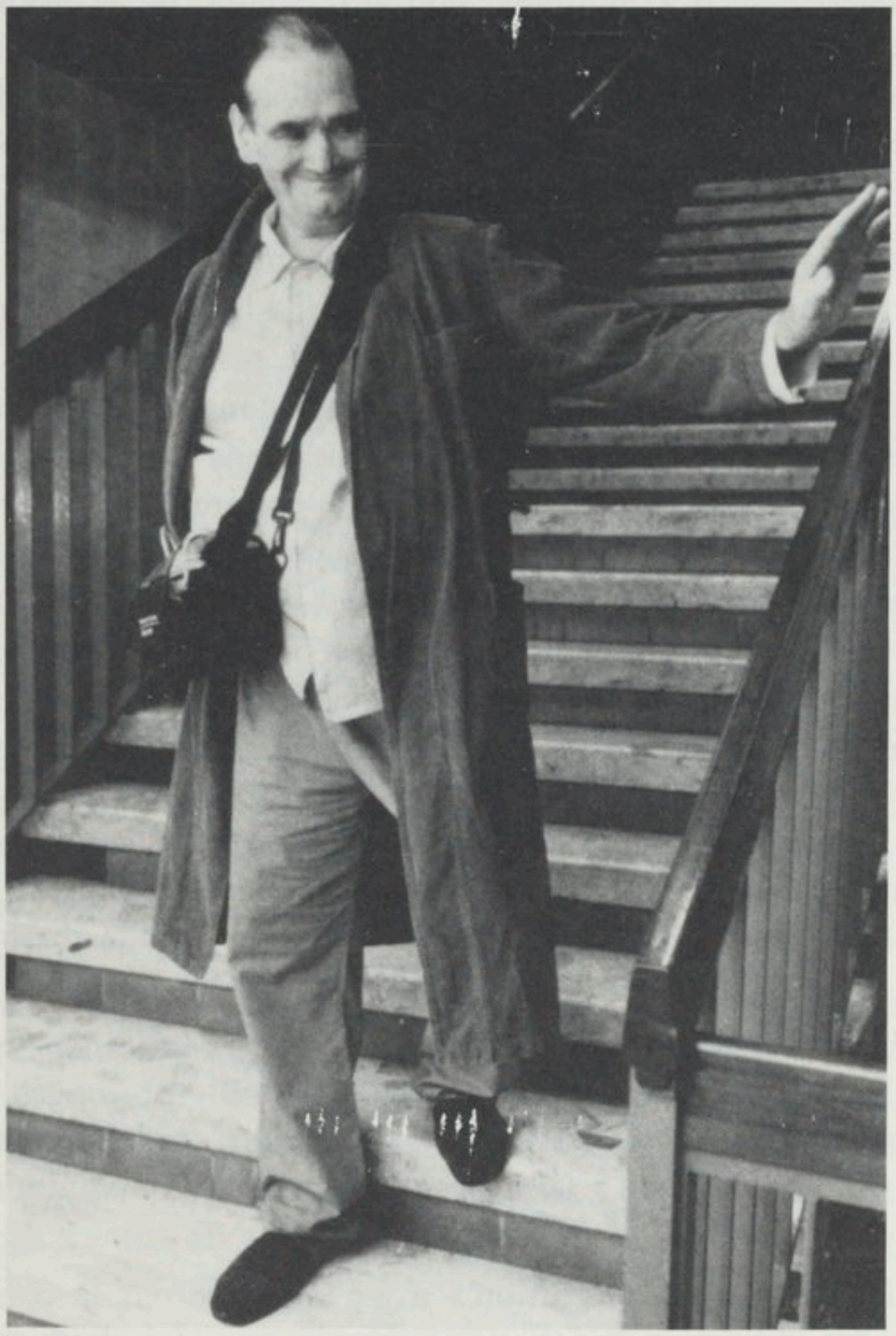


PHOTO 6. — Totale autonomie des mouvements d'un patient placé sous assistance ventriculaire portable.

Les observations faites dans le service ont été rapidement confirmées dans les autres centres européens et français qui ont adopté ce mode d'assistance. Au 1er juin 1995, 140 patients ont bénéficié de la technique. La durée moyenne d'assistance est de 71 jours (1-342). 64 patients ont été transplantés, 29 sont encore sous assistance, 16 ont pu quitter l'hôpital et attendre la greffe au domicile ou en maison de rééducation. Il est intéressant de relever que le système a enfin été autorisé aux Etats-Unis, dans quelques centres, et que les résultats obtenus, en Europe, sont totalement confirmés [7].

L'analyse des résultats obtenus en Europe (47 décès sous assistance soit 33 %) tend à conforter l'idée que le système Novacor connaît une limitation qui tient essentiellement au caractère tardif de l'implantation dans l'évolution du

choc cardiogénique, et à l'éventuelle non réversibilité de la déchéance multiviscérale. L'essentiel des décès observés après implantation est lié à la non récupération de cette déchéance multiviscérale, contemporaine du choc [7]. C'est souligner encore l'intérêt de la précocité de la prise en charge des patients en état de choc, et des décisions.

L'expérience actuelle ouvre des perspectives importantes dans le traitement de l'insuffisance cardiaque sévère. Elle autorise l'augmentation du nombre des patients devant bénéficier de la méthode, par une prise en charge plus précoce par les centres maîtrisant les techniques d'assistance des patients en choc cardiogénique, avant l'apparition de complications viscérales réduisant le taux de succès de ce type d'assistance. Cette préférence donnée au système Novacor, justifiée par son efficacité, pose cependant un véritable problème d'organisation de l'accès aux soins complexes et de financement. Convient-il de multiplier les centres ou d'organiser quelques pôles spécialisés ? La difficulté des problèmes d'organisation à régler, l'importance du niveau d'activité dans l'acquisition et le maintien de la compétence suggèrent que la seconde alternative serait, à court terme du moins, plus efficace. Quant au problème du financement, l'étude des coûts engagés, entreprise dès le second cas de notre expérience, suggère qu'il n'est pas de l'ampleur que l'on pouvait initialement craindre, du fait même de la possibilité d'un retour rapide du patient à son domicile.

A côté de l'extension des indications du pont vers la transplantation, deux autres voies de développement sont ouvertes : l'attente prolongée, sous Novacor, d'une récupération progressive de la fonction cardiaque, autorisant le sevrage, l'alternative complète à la transplantation, par l'implantation définitive du Novacor.

La première « nouvelle indication » a été suggérée par la constatation de l'amélioration des indices de la fonction mécanique ventriculaire gauche, après plusieurs semaines. Elle a conduit, chez 3 patients [8], au sevrage complet de l'assistance, avec la disparition de l'indication de greffe. La mise en évidence d'une possibilité de récupération ventriculaire dans des pathologies bien particulières (maladie auto-immune, pathologie virale), ouvre effectivement des perspectives, surtout si au même moment la thérapie génique se développe et permet d'envisager une véritable reconstitution musculaire [9].

Par ailleurs, l'implantation définitive est désormais envisageable, compte tenu du niveau acceptable de qualité de vie observé chez les patients en attente de transplantation. L'évaluation de l'implantation définitive a été entreprise en août 1994, à Papworth [10]. Le protocole s'adresse aux patients reconnus, bons candidats à la transplantation mais ayant très peu de chance d'être greffés. Les patients ainsi sélectionnés sont, par tirage au sort, soit traités médicalement jusqu'à leur décès, soit équipés du système Novacor portable identique à celui utilisé par notre groupe. L'ampleur du problème éthique nous a conduit à

refuser ce protocole, à préférer pour l'évaluation de l'assistance définitive, la prolongation progressive, à la demande, au cas par cas, de la durée d'attente sous assistance de la transplantation.

RÉSUMÉ

Les développements technologiques successifs, intervenus dans le système d'assistance ventriculaire implanté Baxter-Novacor, ont permis la première implantation mondiale, en mars 1993, d'un système portable, chez un patient en choc cardiogénique, dans l'attente d'une greffe cardiaque. L'expérience actuelle, qui porte sur 6 observations, illustre l'ampleur du progrès réalisé : l'attente prolongée dans les meilleures conditions, éventuellement hors du milieu hospitalier, de la greffe. Cette observation prend, dans le climat actuel de pénurie d'organes, une importance considérable.

MOTS-CLÉS : INSUFFISANCE CARDIAQUE. CHOC CARDIOGÉNIQUE. TRANSPLANTATION CARDIAQUE. ASSISTANCE CARDIOCIRCULATOIRE.

SUMMARY : *Wearable mechanical circulatory support.*

Progressive technological developments have permitted clinical use of the wearable Baxter-Novacor left ventricular assist system. The system allows total bypass of the left ventricular function, and recovery of an adequate circulation in patients in cardiogenic shock. Since the first clinical use, in March 1993, six patients about to die have been supported with a cardiac transplantation. This experience suggests that an acceptable answer to the problem of organ shortage is non available.

KEY-WORDS (Index Medicus) : HEART FAILURE, CONGESTIVE. ASSISTED CIRCULATION. HEART TRANSPLANTATION. SHOCK, CARDIOGENIC.

## BIBLIOGRAPHIE

[1] OYER P.E., STINSON E.B., PORTNER P.M., REAM A.K., SHUMWAY N.E. — Development of a totally implantable electrically actuated left ventricular assist system. *Am J Surg*, 1980, *140*, 17-24

[2] LOISANCE D. — Assistance circulatoire et cœur artificiel. *Encycl Med Chir* (Paris France), *Cardiologie Angéiologie*, 1993, 11-038-E-10, 6 p.

[3] LOISANCE D., DUBOIS-RANDÉ J.L., DELEUZE P.H., HILLION M.L., DUVAL A.M., TAVOLARO O., ROMANO P., CASTAIGNE A., TARRAL A., CACHERA J.P. — Pharmacological bridge to cardiac transplantation. *Eur J Cardio-Thoracic Surg*, 1989, *3*, 196-202.

[4] Loisance D., Deleuze P.H, Mazzucotelli J.P., Hillion M.L. — Mechanical circulatory support at Henri Mondor Hospital : indications for the use of different devices. In « Assisted Circulation » Ed. F. Unger, Springer Verlag, 1995, 59-64.

[5] Loisance D., Cooper G.J., Deleuze P.H., Castanié J.B., Mazzucotelli J.P., Abe Y., Bajan P., Le Besnerais P. — Bridge to transplantation with the wearable Novacor left ventricular assist system : operation technique. *Eur J Cardiothoracic Surg*, 1959, 95-98.

[6] Loisance D.Y., Deleuze P.H., Mazzucotelli J.P., Le Besnerais P. — Aprotinin in circulatory support. *In* « Mechanical Circulatory Support System, J. Lewis Editor, 1995, in press.

[7] Portner P. — Communication personnelle.

[8] Hetzer R. — Communication personnelle.

[9] Yoon D., P.D., Kao R.L., — Magovern GJ. Myocardial regeneration. *Texas Heart Institut Journal*, 1995, *22*, 119-125.

[10] Wallwork J. — Communication personnelle.

## DISCUSSION

M. Jean-Paul Binet : 1) Avez-vous eu l'occasion d'implanter un autre type d'appareil comme une prothèse totale type Jercila ? 2) Quel est le délai maximum observé entre la mise en place d'une dérivation type « Novacor » et la pratique d'une transplantation cardiaque ? 3) Avez-vous été tenté d'essayer une cardiomyoplastie dans les cas extrêmes observés ?

M. Yves Grosgogeat : 1) Dans ce shunt gauche-gauche, la fonction ventriculaire droite doit être la meilleure possible. Dans ces conditions, quelles sont les indications idéales de l'implantation du Novacor, c'est-à-dire quelles sont les étiologie d'insuffisance cardiaque les plus adaptées ? 2) Pour éviter une élévation excessive des résistances pulmonaires, est-on amené à implanter l'appareil à un stade pas trop tardif de la cardiopathie ?

M. Yves Bouvrain : 1) Pourriez-vous préciser quelle est l'action de la pompe Novacor et celle du cœur droit, notamment en cas de fibrillation auriculaire. 2) Où en est la possibilité de recharger par voie transcutanée la source d'énergie ?

M. Maurice Guéniot : Vous avez évoqué, brièvement, le problème du coût économique de cette thérapeutique. J'ai toujours soutenu que les techniques d'avant-garde coûtaient très chers mais que l'assurance-maladie avait, dans ses missions, celle d'assurer la couverture des récents progrès thérapeutiques. Dans le domaine cardiologique quand, il y a cinquante ans, il est devenu possible de guérir l'endocardite maligne lente de Jaccoud-Osler par l'administration prolongée de doses énormes de pénicilline de plus de dizaines de milliers d'unités, le coût énorme de cette thérapeutique a suscité beaucoup d'inquiétude.

Depuis, la pénicilline, extrêmement chère à l'époque, est devenue très bon marché et ce genre de traitement ne suscite plus aucune difficulté économique. Certes, en matière chirurgicale, le problème est un peu différent. En effet, même si le prix de ce matériel très sophistiqué baisse, il restera toujours les charges que représente un centre spécialisé très équipé avec une équipe chirurgicale nombreuse et très qualifiée. Ne pensez-vous pas, néanmoins, que le coût de cette thérapeutique est aussi susceptible de diminuer de façon appréciable ?

M. Loisance : — à M. Binet : 1) Nous disposons de toute une gamme de systèmes d'assistance : les plus simples (les turbines, les pompes centrifuges) jusqu'aux plus complexes (le Novacor). Le choix du Novacor résulte d'une sélection très rigoureuse. 2) La durée de l'attente d'une transplantation cardiaque sous assistance circulatoire par Novacor peut-être considérable : deux ans. A cette échéance de deux ans la fiabilité des divers composants du système est totale. La durée d'attente la plus importante, actuellement observée, dépasse 500 jours. 3) L'assistance mécanique de la circulation et la cardiomyoplastie répondent à des indications différentes. La cardiomyoplastie ne semble pas être la technique optimale, dans la prise en charge des malades les plus graves.

— à M. Grosgogeat : Il existe, effectivement, une très grande interdépendance entre le ventricule droit et le fonctionnement de l'assistance mécanique du ventricule gauche. La dysfonction droite, l'élévation des résistances pulmonaires sont d'autant plus sévères que l'évolution de la dysfonction gauche est plus avancée. C'est dire l'intérêt de l'implantation précoce du ventricule gauche d'assistance, dans l'évolution d'une insuffisance cardiaque.

— à M. Bouvrain : La fibrillation auriculaire gêne le fonctionnement du ventricule droit, et, par voie de conséquence, le fonctionnement de l'assistance ventriculaire gauche. La pompe Novacor, réduisant les pressions de remplissage du cœur gauche, facilite le travail externe du ventricule droit. L'amélioration de la circulation coronaire, droite en particulier, optimise la fonction ventriculaire droite. 2) La transmission percutanée de l'électricité est possible, réalisée, évaluée chez l'animal, prête à une application humaine. Les problèmes technologiques à résoudre, avant d'entreprendre l'étude clinique du système totalement implanté, sont d'un ordre différent : ils tiennent éventuellement à l'obligation d'une chambre de compliance, pour autoriser les variations du volume de la chambre ventriculaire, dans un système totalement clos.

— à M. Guéniot : Les coûts, importants en valeur brute, minimes si on introduit la notion de coût/efficacité, devraient baisser rapidement, du fait de la mécanisation et de l'automatisation des procédures de fabrication. Le coût du système concerne l'administrateur. Par contre, le médecin doit évaluer le coût/efficacité des diverses procédures de traitement disponible, avec le souci d'offrir à la population, le meilleur système coût/efficace sur la durée et la qualité de la vie.

*Bull. Acad. Natle. Méd.*, 1996, *180*, n° 2, 397-417, séance du 13 février 1996

**RAPPORT**

*au nom d'un Groupe de travail* *

# Assistance Médicale à la Procréation. Problèmes médicaux actuels

Robert LAPLANE, Georges DAVID

L'Assistance Médicale à la Procréation (AMP) recouvre un ensemble de techniques qui visent à contourner les obstacles à la fécondation, causes d'infertilité du couple.

Ce domaine médical, rapidement évolutif, soulève de multiples problèmes en raison des conditions d'intervention du médecin. Leur complexité a justifié l'intervention du législateur. Les lois de Bioéthique de juillet 1994 ont fait une large place à l'AMP, lui reconnaissant sa légitimité mais l'encadrant par un ensemble de mesures. Le dispositif prévu tend, essentiellement, à définir les conditions d'exercice de ces pratiques et à veiller à ce qu'elles gardent une finalité médicale. Une instance particulière, la Commission Nationale de Médecine et de Biologie de la Reproduction et du Diagnostic Prénatal (CNMBRDP), est chargée d'exercer un contrôle sur les équipes cliniques et biologiques pratiquant l'AMP.

Le développement des techniques n'est donc pas, ici, laissé à la seule initiative des médecins dans le cadre des règles déontologiques. Cela ne signifie pas pour autant qu'ils puissent s'en affranchir. Bien au contraire l'esprit de la loi invite le médecin à exercer une particulière prudence dans son intervention. La stérilité, si elle est, pour le couple, une souffrance psychologique réelle, ne constitue pas pour celui qui en est la cause un risque physique. C'est à la lumière de cette donnée fondamentale, que le médecin doit exercer une exigence particulière à l'égard des techniques d'AMP quant à leur efficacité et surtout quant à leur innocuité.

L'évaluation de l'efficacité dans le domaine de la procréation, qu'elle soit naturelle ou artificielle, repose sur l'obtention d'une grossesse, et même plus précisément, pour le couple, sur l'obtention d'un enfant bien portant [1].

---

* Constitué de MM. Laplane président, David, Henrion, Sureau, Tubiana.

1. René Frydman. — Résultats, évolution des techniques d'AMP (Séance consacrée aux problèmes posés par l'AMP). *Bull. Acad. Natle Méd.*, 1995, *179*, 8, 1719-1728.

La démonstration de l'innocuité pose un problème plus difficile et à plus long terme. Certes, des effets néfastes peuvent se révéler immédiatement, c'est le cas, comme nous le verrons, de certaines complications maternelles dues aux stimulations ovariennes. Par ailleurs, le taux de malformations à la naissance est un bon indicateur des effets sur l'embryon et le fœtus. Toutefois, l'utilisation exclusive qui en est trop souvent faite, méconnaît deux notions :

1 — des malformations peuvent ne se révéler que secondairement,
2 — les effets délétères peuvent être d'un ordre très différent [1].

Le décalage, dans le temps et dans la possibilité de mise en évidence, entre l'efficacité et l'innocuité d'une nouvelle technique d'AMP, crée une situation difficile. La constatation de succès, par les équipes pionnières, fait l'objet d'une diffusion extrêmement rapide aux autres équipes par contacts directs, ou par la voie des communications dans les réunions scientifiques de plus en plus fréquentes. Les médias le font connaître au public. Dès lors, les couples infertiles en réclament l'application, avant même parfois que les praticiens traitants ne soient en mesure de les mettre en œuvre. Ainsi passe-t-on sans transition, et surtout sans frontière nette, du stade de la recherche au stade de l'application. Pour prendre la terminologie utilisée en matière de médicament, il n'existe pas, dans ce domaine, l'équivalent d'une AMM, c'est-à-dire l'autorisation de mise sur le marché, qui sépare bien la phase de mise au point de la phase de large utilisation.

## 1. — NÉCESSITÉ D'UN CLASSEMENT DES TECHNIQUES À L'ÉGARD DE LEUR PHASE DE DÉVELOPPEMENT

Une des premières mesures nécessaires serait de classer les différentes techniques dans l'une des trois classes caractérisant leur phase de développement :

1 — Technique en phase de recherche ;
2 — Technique en phase d'évaluation ;
3 — Technique éprouvée.

Par qui devrait être établi ce classement ? Quelles en seraient les conséquences ?

La Commission Nationale de Médecine et de Biologie de la Reproduction et du Diagnostic prénatal est certainement la mieux placée pour donner ici un avis éclairé. Tout d'abord du fait de sa composition, qui comporte une large représentation des milieux professionnels les mieux à même d'apporter les informations les plus complètes au plan international. Mais également en raison des missions que lui assignent les textes législatifs (Article 184-3 — Loi n° 94-654) et réglementaire (Décret 95-558 du 6.5.95). En effet, elle est notamment chargée :

1. Maurice Auroux. — Possibilités et limites de la recherche (Séance consacrée aux problèmes posés par l'AMP). *Bull. Acad. Natle Méd.*, 1995, *179*, 8, 1729-1741.

1 — de donner un « avis conforme sur les études sur embryons » ;

2 — de donner « un avis motivé sur les demandes d'autorisation de pratiquer les activités de diagnostic biologique à partir de cellules prélevées sur l'embryon *in vitro* » ;

3 — de faire apparaître, dans un rapport annuel, « les avancées scientifiques et techniques ainsi que leurs enjeux ».

Le classement, bien entendu évolutif, de chacune des techniques dans l'une de ces catégories entraînerait des mesures appropriées. L'exécution d'une technique en phase de recherche serait réservée aux équipes désignées dans un protocole de recherche avalisé, selon les cas, par un Comité Consultatif de Protection des Personnes pour la Recherche Biomédicale (CCPPRB) ou par la Commission de médecine et de biologie de la reproduction et du diagnostic prénatal. La pratique d'une technique en phase d'évaluation serait autorisée aux équipes participant à un programme d'évaluation multicentrique comportant, notamment, un suivi au-delà de la naissance. Enfin, les techniques éprouvées seraient ouvertes à toutes les équipes ayant reçu les autorisations prévues par les textes réglementaires, mais elles devraient faire l'objet de recommandations de bonnes pratiques.

Les informations à donner au couple, en préalable à la mise en œuvre d'une AMP, (article 152-10 — Loi 94-654), devraient comporter la précision de la phase de développement de la technique envisagée. Une telle disposition aiderait les couples à prendre leur décision en pleine connaissance de cause. Bien des engouements pour une nouvelle technique, que suscitent parfois des déclarations médiatiques prématurées sur ses résultats, seraient certainement réfrénés. Ce serait en pleine acceptation de leurs incertitudes que les couples entreraient dans un protocole de recherche ou dans un programme d'évaluation.

## 2. — RISQUES POUR LA MÈRE

L'Assistance Médicale à la Procréation (AMP) expose les patientes à des complications à court ou à long terme [1].

### 2.1. — Les complications à court terme

#### 2.1.1. — *Les complications liées à la stimulation ovarienne*

*Les syndromes d'hyperstimulation ovarienne* sont fréquents mais dans l'ensemble modérés. Les formes graves, heureusement rares (0,5 à 2,6 %), nécessitent une hospitalisation, parfois en unité de soins intensifs pour éviter une

1. Jean-René Zorn. — Risques maternels de l'Assistance Médicale à la Procréation (Séance consacrée aux problèmes posés par l'AMP). *Bull. Acad. Natle Méd.*, 1995, *179*, 8, 1743-1750.

issue fatale. De tels tableaux, aujourd'hui bien connus, conduisaient autrefois à des interventions chirurgicales radicales, dramatiques chez ces femmes jeunes et stériles.

*Les accidents thrombo-emboliques*, très rares, sont parfois redoutables, notamment lorsqu'il s'agit d'embolies artérielles, presque toujours cérébrales. Ne succédant habituellement pas à une hyperstimulation, leur prévention est difficile et leur évolution souvent mortelle. Les thromboses veineuses du territoire cave supérieur ou cave inférieur sont, dans l'ensemble, moins graves.

*Les grossesses multiples*, conséquences d'une hyperstimulation mais aussi du replacement dans l'utérus de plusieurs embryons, sont particulièrement fréquentes, notamment en cas de transfert intra-tubaire des gamètes (Gamete Intra-Fallopian Transfert : GIFT). Mais le risque le plus important semble être celui des stimulations ovariennes associées aux inséminations intra-utérines, utilisées d'une manière courante dans les cas de stérilité masculine, féminine ou idiopathique à trompes perméables. Les grossesses obtenues sont alors gémellaires dans 20 % des cas et triples dans près de 10 % des cas. La même remarque peut être faite pour les stimulations ovariennes associées ou non à de simples inséminations artificielles, probablement encore plus nombreuses, pour lesquelles on ne possède aucun renseignement statistique. Il est impossible, en effet, de limiter dans ces fécondations *in vivo* le nombre des ovocytes qui seront fécondés et s'implanteront.

La fréquence des grossesses multiples augmente d'ailleurs, régulièrement, depuis le début des années 1970, comme l'a signalé le Comité Consultatif National d'Ethique (Avis numéro 42 du 30 mars 1994). Pour l'ensemble de la population, l'incidence des jumeaux s'est élevée de 8,8 pour 1 000 en 1972 à 12,1 pour 1 000 en 1990, soit une augmentation de 37 %, celle des triplés de 0,9 pour 10 000 en 1972 à 4,4 pour 10 000 en 1989, soit une augmentation de 450 %. A vrai dire, cette élévation s'était amorcée avant même l'introduction de la FIV.

Or, on sait que les grossesses multiples comportant trois fœtus ou plus sont des grossesses à haut risque où l'on note une augmentation des complications, qu'il s'agisse de toxémie, d'hypertension artérielle, d'infection urinaire, de retard de croissance *in utero*, d'accouchement prématuré, de rupture prématurée des membranes et de problèmes mécaniques lors de l'accouchement, ce qui aboutit, en définitive, à une élévation très importante du nombre des césariennes. Le risque, pour l'enfant, s'aggrave avec leur nombre. Il convient également de rappeler les problèmes psychologiques, sociaux et économiques rencontrés par les parents ayant à élever des enfants triplés ou plus nombreux.

Pour éviter de tels accidents, il existe plusieurs solutions. L'une, palliative, consiste à réduire le nombre des embryons ; les autres, préventives, consistent à éviter les hyperstimulations, à diminuer le nombre des embryons transférés ou, éventuellement, à développer la fécondation *in vitro* avec ovulations spontanées. Les réductions embryonnaires sont particulièrement pénibles tant pour le

gynécologue-obstétricien qui doit choisir les embryons à éliminer que pour la mère ayant enfin obtenu la grossesse qu'elle désirait. La décision est raisonnable mais cruelle et de véritables souffrances psychiques peuvent s'exprimer dans les mois qui suivent l'accouchement.

### 2.1.2. — *Les autres complications à court terme*

*Les grossesses extra-utérines* sont plus fréquentes chez les patientes traitées. En outre, certaines formes de grossesse extra-utérine très rares, telles que les GEU multiples et les grossesses associant nidation intra et extra-utérines, sont plus fréquentes après AMP.

*Les avortements spontanés* ne semblent pas beaucoup plus fréquents après fécondation *in vitro*, transfert intra-tubaire des gamètes ou insémination intra-utérine. En fait, la proportion d'avortements spontanés est en corrélation avec la parité et l'âge de la mère.

*Les grossesses évolutives* obtenues après FIV, même lorsqu'elles ne sont pas multiples, sont plus souvent compliquées que les grossesses spontanées, qu'il s'agisse de toxémie gravidique, de retard de croissance *in utero* ou de prématurité. Elles aboutissent plus fréquemment à des césariennes.

### 2.1.3. — *Les complications liées aux manœuvres*

*La ponction des follicules ovariens*, effectuée par voie vaginale sous contrôle échographique, peut se compliquer d'accidents hémorragiques ou infectieux. La survenue d'une hémorragie interne après plaie des gros vaisseaux est exceptionnelle, de même que les blessures digestives. En revanche, le risque de pelvipéritonite et d'infection annexielle grave, à type de pyosalpinx ou d'abcès de l'ovaire, à chlamydia ou à germes variés, ne peut être écarté en cas de salpingite chronique.

*Le transfert intra-tubaire des gamètes* ne comporte d'autres risques que celui de la coelioscopie et de l'anesthésie générale, bien que le cathétérisme tubaire puisse être à l'origine de lésions de l'ampoule et du pavillon.

## 2.2. — Les complications à long terme

La possibilité d'un effet carcinogène de la stimulation sur les ovaires a été récemment évoquée à la suite de plusieurs études, à vrai dire contradictoires. Même si ces thérapeutiques ne faisaient que doubler l'incidence de ces cancers rares (13 cas environ pour cent mille femmes par an), il s'agit de cancers de très mauvais pronostic. En fait, certains arguments laissent à penser qu'il pourrait exister un lien entre la fertilité elle-même et la survenue d'un cancer de l'ovaire. Une enquête cas-témoin est en cours de mise en place pour examiner le risque de cancer ovarien.

En ce qui concerne le cancer du sein et la possibilité de ménopause précoce, aucune donnée n'est actuellement disponible.

*Bull. Acad. Natle. Méd.*, 1996, *180*, n° 2, 397-417, séance du 13 février 1996

## 3. — RISQUES POUR L'ENFANT

Toute technique efficace ne peut manquer de comporter des risques potentiels. L'AMP n'y échappe pas. Certains de ces risques sont, dès maintenant, identifiables et en partie évitables. D'autres ne peuvent être que soupçonnés, certains sont peut-être ignorés ; ceux-là ne seront reconnus qu'au prix d'une mise en œuvre de dispositifs épidémiologiques appropriés.

Les risques potentiels relèvent de 3 grands mécanismes [1].

C'est ainsi que l'on peut distinguer :

1 — les risques liés aux grossesses multiples ;
2 — les risques liés aux indications masculines ;
3 — les risques liés aux techniques invasives sur l'ovocyte.

### 3.1. — Risques liés aux grossesses multiples

Les grossesses multiples, dont nous avons vu qu'elles ne sont pas l'apanage des techniques les plus lourdes, peuvent résulter des seules stimulations ovariennes dans les fécondations *in vivo* (insémination artificielle), ou du transfert de plusieurs embryons dans les fécondations *in vitro*. Dans tous les cas, elles constituent une menace sérieuse de retard de croissance intra-utérin et de prématurité, qui augmente la morbidité et la mortalité périnatales. On ne dispose malheureusement pas d'un suivi de ces enfants pendant plusieurs années pour évaluer les conséquences de ces hypotrophies. Or, des études épidémiologiques pratiquées sur des enfants issus de procréations naturelles montrent qu'il y a une augmentation du risque de séquelles cérébrales et du risque, à l'âge adulte, de maladies cardio-vasculaires (Barker). Ces deux types de risques devraient faire l'objet d'une attention particulière en étudiant, dans les premières années de la vie, d'une part le développement psychomoteur et, d'autre part, l'apparition d'une élévation de la tension artérielle qui serait un signal précoce du risque cardio-vasculaire.

### 3.2. — Risques inhérents aux indications masculines

Ces risques tiennent à ce qu'une proportion notable des infertilités masculines est d'origine génétique. Restées longtemps hors de toute solution thérapeutique, un espoir leur a été ouvert avec la FIV et surtout avec la microinjection du spermatozoïde dans l'ovocyte, dont elles sont maintenant l'indication majeure. Toutefois, la possibilité d'obtenir une procréation à partir de spermatozoïdes éventuellement vecteurs d'une anomalie génétique, impose des pré-

1. Georges David. — Interrogations pour l'avenir de l'enfant (séance consacrée aux problèmes posés par l'AMP). *Bull. Acad. Natle Méd.*, 1995, *179*, 8, 1751-1757.

cautions auxquelles on n'a pas porté, jusqu'à présent, une attention suffisante. La notion de risque génétique devrait entraîner deux mesures systématiques :

1 — la recherche d'une éventuelle cause génétique dans toute infertilité masculine ;

2 — en cas de découverte d'un tel facteur, une évaluation du risque de transmission, dans le cadre d'un véritable conseil génétique préconceptionnel.

Les infertilités masculines génétiques sont diverses. Certaines de ces pathologies sont déjà connues ; d'autres sont en cours d'exploration ; il en reste probablement à découvrir. Dès aujourd'hui, il convient de tenir compte des pathologies connues et identifiables. Il en est de 4 types.

### 3.2.1. — *Les infertilités par anomalies chromosomiques*

Il est établi, depuis longtemps, que les hommes infertiles présentent un taux anormalement élevé d'aberrations chromosomiques, ce taux étant proportionnel à l'intensité du déficit en spermatozoïdes. C'est ainsi que, dans les oligospermies, il s'élève déjà à 5 % et que, dans les azoospermies, il atteint 15 %, voire 21 % dans les azoospermies sécrétoires.

Les anomalies sont loin d'être univoques.

Les plus fréquentes, observées surtout dans les azoospermies, sont des dysgonosomies généralement du type XXY ; le risque est la transmission d'une dysgonosomie, qui est évidemment compatible avec la vie mais ne se limite pas toujours à une stérilité.

Moins fréquentes sont les anomalies autosomiques. Elles sont toujours équilibrées, ce qui explique la normalité du porteur ; on les rencontre surtout dans les oligospermies. Ce sont : soit des translocations robertsoniennes qui comportent un risque de trisomie somatique, avec le plus souvent une impossibilité de développement fœtal ; soit des translocations réciproques où la situation est beaucoup plus complexe car le risque, pour l'enfant, varie selon le type et la localisation de la translocation ; il peut aller d'une menace d'interruption précoce du développement à l'existence de malformations plus ou moins graves.

L'éventail des risques, pour l'enfant, est donc très large. Le conseil génétique préconceptionnel a pour premier objectif de l'évaluer et de déterminer s'il y a utilité de pratiquer un diagnostic prénatal ou postnatal caryotypique.

### 3.2.2. — *Les infertilités par mucoviscidose*

Depuis peu s'est établie la notion que les stérilités, par absence des canaux déférents, relevaient d'une forme particulière de mucoviscidose, caractérisée par une expression essentiellement génitale, sans autres manifestations apparentes de la maladie. La double mutation du gène CFTR (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator) peut réaliser une des multiples combinaisons déjà connues, mais elle peut aussi être l'association d'une de ces variétés avec une

mutation particulière portant sur la partie non codante du gène. Comme la spermatogenèse est par ailleurs normale, il est possible d'obtenir une procréation par micro-injection. Mais dans ce cas, le risque de mucoviscidose doit être pris en compte. La constatation d'une azoospermie par absence des canaux déférents implique donc la recherche des gènes de mucoviscidose, aussi bien chez l'homme que chez la femme.

#### 3.2.3. — *Les infertilités par dyskinésies ciliaires*

Certaines asthénospermies font partie d'une pathologie congénitale de l'appareil moteur commun aux cils respiratoires et aux flagelles des spermatozoïdes. Leurs modalités de transmission sont encore mal élucidées et les gènes en cause, dans l'espèce humaine, non encore identifiés. Mais il convient, dès maintenant, de rechercher dans toute asthénozoospermie isolée, avant micro-injection, si elle n'entre pas dans ce cadre.

#### 3.2.4. — *Les autres causes génétiques d'infertilité*

On a commencé à identifier des gènes, localisés sur le chromosome Y, qui peuvent être à l'origine d'une azoospermie ou d'une oligospermie. Leur intérêt pratique était jusqu'alors limité. Il n'en est plus de même avec l'apparition de la micro-injection car l'identification du caractère héréditaire de la stérilité, dès lors qu'elle se révèle possible, devrait faire partie de l'information à fournir au couple avant la décision thérapeutique.

### 3.3. — Risques liés aux techniques invasives sur l'ovocyte

Il s'agit ici de la micro-injection du spermatozoïde qui comporte déjà des variantes selon les modalités techniques, par exemple injection douce ou forte, ou le degré de maturité du gamète mâle.

La micro-injection diffère de la FIV classique par quatre facteurs :

1 — elle contourne les barrières sélectives ;
2 — elle comporte un traumatisme de l'ovocyte ;
3 — elle s'accompagne de l'introduction, avec le spermatozoïde, de substances présentes dans le milieu de manipulation ;
4 — le spermatozoïde injecté, s'il a été prélevé au niveau de l'épididyme ou du testicule, présente une immaturité plus ou moins marquée.

Chacun de ces facteurs pourrait être à l'origine de risques potentiels. Aussi importe-t-il de relever, pour chaque tentative, les modalités opératoires selon un protocole standardisé.

De la même manière, il faudrait consigner les caractéristiques des produits utilisés (nature, lot, ...) pour la manipulation des gamètes et tout spécialement ceux qui sont injectés avec le spermatozoïde. En effet, tous ces produits sont actuellement délivrés en tant que réactifs de laboratoire, souvent même avec une

recommandation explicite du fournisseur de non utilisation en pratique humaine. Reconnaître leur réelle utilisation, qui les rapproche du médicament, devrait permettre d'assurer des contrôles de fabrication beaucoup plus rigoureux. Il devrait revenir à l'Agence du Médicament d'exercer cette fonction.

D'une manière plus générale, le développement de l'AMP, et surtout de la micro-injection, a transformé la nature même de la pratique biologique. Jusqu'alors, le biologiste n'intervenait qu'à titre complémentaire et indirect dans la démarche médicale, par la fourniture de données d'analyse. Dans l'AMP, et tout particulièrement dans ses derniers développements techniques, le biologiste a un rôle thérapeutique direct. La loi de Bioéthique distingue d'ailleurs clairement, parmi les activités d'AMP, les activités cliniques et les activités biologiques. Des agréments distincts sont prévus pour chacune de ces catégories. La loi reconnaît donc, dans les faits, ce que l'on pourrait appeler la Biologie interventionnelle. Il faudrait en tirer toutes les conséquences quant aux conditions d'exercice ou aux responsabilités, aussi bien déontologiques qu'administratives.

### 3.4. — Recherche des risques

La nécessité d'identifier les risques de l'AMP, aussi bien pour la mère que pour l'enfant, s'impose d'autant plus que l'intervention médicale n'est pas ici justifiée par une menace pathologique.

Nous venons de voir la diversité de ces risques ; certains sont prévisibles, en particulier parce qu'ils tiennent aux indications, d'autres peuvent seulement être évoqués. En fait, ce que l'on doit redouter avant tout ce sont des risques à l'heure actuelle imprévisibles, d'autant plus difficiles à reconnaître qu'ils seraient tardifs. L'exemple des accidents retardés, chez les enfants dont les mères avaient reçu du diéthylstilboestrol pendant leur grossesse, est là pour nous montrer que l'on doit faire preuve de la plus grande prudence.

En France, les milieux professionnels ont déjà mis en place des dispositifs centralisés de collecte et de traitement des données (BLEFCO *, CECOS **, FIVNAT ***, GEFF ****). Les études qu'elles ont permises ont porté jusqu'à présent sur le court terme, c'est-à-dire sur la période prénatale et la naissance. Dans l'ensemble les résultats, confirmant d'autres données internationales, ont abouti à des conclusions rassurantes s'appuyant, en particulier, sur le taux de malformations observées à la naissance. Cet acquis essentiel, qui demande bien entendu à être contrôlé pour chaque nouvelle technique, ne doit pas faire oublier cependant que les effets délétères éventuels peuvent ne pas être seulement de l'ordre des anomalies anatomiques et qu'ils peuvent n'avoir qu'une révélation tardive.

---

* Biologistes des laboratoires d'étude de la fécondation *in vitro*.
** Centres d'étude et de conservation des œufs et du sperme humains.
*** Fichier national de la fécondation *in vitro*.
**** Groupe d'étude de la fécondation *in vitro* en France.

La détection d'éventuels risques tardifs, chez l'enfant, pose un double problème, technique et éthique.

### 3.4.1. — *Méthodes épidémiologiques*

On dispose de deux méthodes épidémiologiques pour mettre en évidence des risques retardés [1] : l'une est prospective, c'est l'étude de cohortes ; l'autre est rétrospective, c'est l'étude de cas-témoins [2].

L'étude de cohortes est déjà engagée : FIVNAT a mis sur pied le suivi d'enfants conçus par FIV. L'enquête portera sur la naissance et la première année de la vie ; elle comporte un groupe témoin de non-exposés. Il conviendrait de l'étendre en donnant des moyens supplémentaires tant aux équipes d'AMP y participant qu'à la structure centrale, FIVNAT, qui en assure la direction. On notera que cette structure, mise sur pied à l'initiative des milieux professionnels, si elle repose principalement sur des moyens de l'INSERM, en particulier pour le personnel (U 192), dépend pour une large part de son fonctionnement de moyens apportés par des firmes pharmaceutiques intéressées au domaine. Une

---

1. Gérard Bréart, Jacques de Mouzon. — AMP-Vigilance (Séance consacrée aux problèmes posés par l'AMP). *Bull. Acad. Natle Méd.*, 1995, *179*, 8, 1759-1764.

2. Toute étude épidémiologique comporte des risques d'erreur qui sont, pour les uns, liés à la méthode statistique et, pour les autres, à la façon dont celle-ci est utilisée.

Les premières sont de conclure à une relation alors que celle-ci n'existe pas ou ne pas la déceler alors qu'elle existe. Le premier risque consiste à tenir pour réel (« significatif ») un résultat dû aux seules fluctuations d'échantillonnage. Le risque généralement accepté est de 5 %. On doit alors escompter qu'une étude sur 20 (1/20 = 5 %) donnera un résultat faussement positif (existence d'une anomalie alors qu'il n'en existe pas) ou, inversement, un résultat faussement négatif (absence d'anomalie alors qu'il en existe une). De même, si l'on étudie dans une population 20 anomalies différentes, on doit s'attendre à ce qu'il y ait, pour l'une d'elles, une variation significative (en plus ou en moins) uniquement du fait du hasard. Aussi, un résultat statistique isolé doit-il être interprété avec prudence ; il est nécessaire d'attendre la confirmation par une autre enquête. De plus, il faut tenir compte du fait que les auteurs des enquêtes épidémiologiques ou les éditeurs des revues ont naturellement tendance à publier des résultats positifs plutôt que les études dans lesquelles aucune différence n'a été décelée. Il faut rappeler, par ailleurs, que la non détection d'une différence qui existe est généralement liée à un manque de puissance. Ce risque est d'autant plus élevé que la différence à déceler est plus faible et que la taille de l'échantillon est plus petite. C'est pourquoi plus la différence à mettre en évidence est faible, plus les échantillons doivent être importants.

Les erreurs dans l'utilisation de la méthode ou dans l'interprétation des résultats sont de multiples origines ; une des plus fréquentes consiste, dans une étude sur un ensemble de régions, à procéder à une analyse dans les sous-groupes de sujets habitant telle région. La probabilité d'observer une différence significative pour un au moins de ces sous-groupes est alors élevée. D'autres erreurs peuvent être la conséquence du choix de la population étudiée ou du choix du type d'anomalie étudiée ou être dues au passage, sans réserves, de la corrélation à l'imputation causale.

Enfin, si l'on doit considérer comme non significatif un résultat quand la probabilité d'erreur est supérieure à 5 %, ceci ne signifie pas que les études non significatives soient dénuées de valeur, elles peuvent apporter des renseignements utiles qui, examinés avec précaution, peuvent justifier des études complémentaires et des méta-analyses.

autre enquête prospective, initiée par l'association BLEFCO, porte sur les enfants issus de micro-injection. Elle devrait également être renforcée dans ses moyens. Par ailleurs, quelques équipes d'AMP ont pris l'initiative d'enquêtes sur le devenir de leurs patients. Ces enquêtes répondent à des méthodologies diverses, combinant le suivi d'enfants en consultation et des enquêtes par questionnaires. Elles sont susceptibles d'apporter certaines informations utiles. Toutefois leur portée est limitée par leur taille et par le fait que les différences méthodologiques ne permettent pas de les faire entrer dans un processus de méta-analyse. Le moment est venu, puisqu'il y a une entente des milieux professionnels sur la nécessité de répondre à des interrogations quant à l'avenir des enfants issus d'AMP, d'engager une réflexion sur les méthodes et les moyens propres à assurer aux différentes initiatives une cohérence qui garantira leur efficacité.

Le suivi prospectif par des cohortes est nécessaire. Toutefois, il faut en reconnaître les contraintes et les limites. Pour mettre en évidence des augmentations modérées de survenue d'événements rares, il faut des effectifs très importants. D'autre part, pour un suivi de longue durée, une attrition importante est inévitable. Enfin, la nature des données à recueillir devant avoir été établie préalablement, l'intérêt de cette démarche pour la mise en évidence d'effets inattendus peut être limité. Aussi faut-il envisager d'autres moyens mieux adaptés à la détection d'effets imprévisibles, dont l'expérience du diéthylstilboestrol a donné l'exemple.

La méthode cas-témoin est au centre de la démarche rétrospective permettant d'imputer un effet constaté secondairement à sa cause initiale. C'est cette démarche qui inspire l'enquête initiée par l'INSERM pour explorer l'hypothèse de l'augmentation du risque de cancer ovarien après AMP. Mais, comme on le voit par cet exemple, l'application d'une telle enquête doit partir d'une suspicion. Le préalable à la mise en œuvre d'une enquête cas-témoin est donc la détection d'un signal d'alerte. Il peut, éventuellement, venir de l'observation des cohortes prévue précédemment. Mais il ne peut être attendu de cette seule voie. Il faut qu'il repose sur une base beaucoup plus large et non spécialisée.

Les enfants issus d'AMP bénéficient du suivi médical habituel. Ils en bénéficient même plus que d'autres du fait qu'ils ont été fortement désirés, difficilement obtenus et que, de plus, nombre d'entre eux ont nécessité, dans la période néonatale, plus de soins médicaux. C'est de ce suivi, laissé à l'initiative des parents, dans des structures médicales très diverses, soit privées, pédiatres, médecins généralistes, soit publiques, consultations hospitalières, qu'il faudrait tirer parti. L'attention des différents intervenants devrait être appelée sur les problèmes que l'on se pose pour les enfants issus d'AMP. Pour prendre un exemple précis, la question de l'élévation du risque cardio-vasculaire, à l'âge adulte, pour les sujets ayant présenté une hypotrophie fœtale, devrait être mieux prise en compte. On sait, en effet, que l'on constate chez eux, dès l'enfance, une

augmentation de la tension artérielle. Ce signe devrait donc entrer dans le suivi habituel des enfants issus d'AMP.

Ainsi le système d'alerte sanitaire, loin d'être fondé sur un dispositif spécifique, probablement aussi lourd dans sa mise sur pied que limité dans son efficacité par les contraintes qu'il imposerait, doit-il reposer le plus largement possible sur les structures médicales existantes et sur le suivi habituel, déjà bien développé dans le cadre des dispositions réglementaires. Pour lui donner plus d'efficacité à l'égard de l'objectif particulier envisagé ici, il conviendrait avant tout que les informations sur l'AMP, si largement distribuées en ce qui concerne les innovations techniques et leur efficacité, soient assorties des légitimes interrogations à propos d'éventuels effets indésirables.

Le signal d'alerte, quelle que soit son origine, cohorte, suivi habituel, voire constatation fortuite, ne peut apporter qu'une présomption. La certitude viendra d'une enquête cas-témoin. Celle-ci pose deux problèmes. Tout d'abord il faut avoir la certitude que les sujets désignés comme « cas » ont bien été conçus par AMP et que les « témoins » ne l'ont pas été. Ensuite, il faut disposer de données détaillées sur les indications et les modalités de la technique utilisée pour l'AMP ; ces données devant être à la fois précises et standardisées. Dans cette perspective, il serait souhaitable qu'un dossier médical type, incluant tous les renseignements jugés utiles, soit élaboré par la profession. Les modalités de conservation de ces dossiers, par les Centres d'AMP, devraient être précisées dès maintenant.

Le retour à cette source d'information nécessite de connaître la localisation du dossier. Or, autant il est facile de connaître le lieu de naissance de chaque personne, autant il est difficile de trouver son lieu de conception, celle-ci fut-elle médicalisée. Aussi, faudrait-il porter attention aux difficultés que l'on rencontrera pour établir, selon la terminologie technique, la traçabilité. Car, pour conduire une enquête cas-témoin, il ne suffit pas de disposer de sujets volontaires, encore faut-il pouvoir remonter à leur dossier médical.

Cette traçabilité mérite d'autant plus d'attention que, s'il advenait de découvrir un jour un effet indésirable lié à l'une ou l'autre des techniques d'AMP, on se trouverait, dès la diffusion de cette information, face à des demandes de personnes s'estimant concernées, soit des couples ayant eu recours à une AMP, soit des sujets conçus par ces techniques. Il faudrait pouvoir répondre à leurs légitimes interrogations.

L'ensemble de ces mesures pourrait entrer dans le cadre de ce que l'on appelle un système de vigilance. Après la pharmacovigilance, l'hémovigilance, la biovigilance et la matériovigilance on parlerait d'AMP-vigilance. Le terme est imagé, aussi a-t-il été utilisé au cours des exposés présentés lors de la séance que l'Académie a consacrée, le 28 novembre 1995, à l'AMP. Toutefois, il est clairement apparu, au Groupe de travail, que le terme d'AMP-vigilance pouvait prêter à confusion sur le dispositif souhaité. En effet, il s'agit moins, comme

on l'a vu, de mettre sur pied un dispositif d'AMP-vigilance spécifique que d'introduire un état d'esprit de vigilance dans l'abord de problèmes qui, selon la remarque judicieuse de G. Bréart et J. de Mouzon, « ne représentent qu'un des aspects du problème de la surveillance des effets à long terme des pratiques médicales autour de la naissance ; on peut citer l'utilisation de l'AZT pendant la période pré et périnatale, les nouvelles techniques de réanimation néonatale, l'administration de NO (monoxyde d'azote) ».

Ces surveillances posent également les mêmes problèmes éthiques.

### 3.4.2. — *Exigences éthiques* [1]

La stérilité du couple rend nécessaire l'intervention médicale dans l'acte qui est au plus profond de notre intimité personnelle, celui de la procréation. Cette nécessité peut-elle justifier une intrusion du médecin dans ce qui est au-delà du techniquement nécessaire et du souhaité par le couple. La réponse serait naturellement négative si le médecin n'avait également des devoirs à l'égard de l'enfant dont il a permis la naissance.

Au premier rang de ces devoirs figure celui de la recherche du maximum d'innocuité et donc celui de la détection de risques éventuels. Cependant, on doit alors tenir compte d'une part de l'obligation d'obtenir le consentement des parents pour tout suivi qui dépasserait le cadre habituel et, d'autre part, pour toute utilisation des données recueillies. L'inclusion dans une cohorte doit, en particulier, être soumise à une libre participation des parents et à une stricte confidentialité. Elle doit encore éviter de susciter, chez l'enfant, toute inquiétude ou tout sentiment de singularité. Ce devoir est d'autant plus impératif que l'on ne peut s'appuyer, le concernant, sur la possibilité d'obtenir un consentement éclairé. Cependant, le médecin ne peut négliger la recherche des risques éventuels, d'autant plus que certains d'entre eux pourraient peut-être relever d'une prévention.

Dans la mesure où la nécessité d'une vigilance aura conduit à mettre sur pied un dispositif de traçabilité, il faudra être particulièrement attentif à l'usage qui en serait fait. Ce système ne devrait être ouvert qu'à des interrogations confidentielles provenant de patients, couples ou enfants, pouvant justifier d'un intérêt médical direct à obtenir ces données. On ne peut être que très réservé quant à toute utilisation de ce dispositif dans un but médical, qui ne présenterait pas de bénéfice direct pour les intéressés ou qui n'aiderait pas à mieux conduire la mise en œuvre de ces techniques. Ici, comme dans bien d'autres situations propres à l'AMP, la complexité et la particularité des problèmes éthiques soulevés font recommander le recours à un avis préalable du Comité Consultatif National d'Ethique.

---

1. André Boué. — Quelques réflexions éthiques (séance consacrée aux problèmes posés par l'AMP). *Bull. Acad. Natle Méd.*, 1995, *179*, 8, 1765-1769.

*Bull. Acad. Natle. Méd.*, 1996, *180*, n° 2, 397-417, séance du 13 février 1996

## 4. — NÉCESSITÉ DE LA RECHERCHE

Toute activité, en particulier scientifique ou médicale, si elle n'est pas associée à une dynamique de recherche, stagne puis régresse. Cette observation s'applique à la médecine de la reproduction, comme aux autres disciplines médicales, et plus précisément à l'Assistance Médicale à la Procréation.

La pratique de celle-ci, en accord avec les dispositions législatives, conduit à souligner la légitimité d'une telle recherche, en premier lieu pour en améliorer les résultats en termes de qualité et de sécurité, notamment en réduisant la fréquence des grossesses multiples dont le nombre n'a pas diminué, comme on pouvait l'espérer, avec la pratique de la congélation des embryons. A ce sujet, il convient de souligner que la congélation des embryons comporte, par ailleurs, une conséquence regrettable ; les embryons congelés qui ne répondent plus à un projet parental doivent, selon les dispositions législatives, être détruits lorsqu'ils atteignent le délai de cinq ans de conservation. Cette malheureuse éventualité doit encourager le développement de la recherche sur la congélation des ovocytes, qui rendrait inutile la congélation des embryons sans en avoir les inconvénients. D'autres conséquences heureuses, liées à l'accroissement des connaissances dans divers domaines de la pathologie, tels que les grossesses extra-utérines ou les avortements à répétition, et plus généralement l'infécondité dont il est nécessaire de chercher à améliorer la prévention, qu'elle soit féminine (par des recherches fondamentales et appliquées dans le domaine infectieux) ou masculine (par des études orientées vers l'identification des causes génétiques, environnementales voire comportementales), peuvent être attendues de ces recherches.

On pourrait, certes, à la fois reconnaître l'intérêt de telles recherches, mais préférer s'en abstenir sur le territoire national dans l'attente de pouvoir bénéficier ultérieurement des progrès réalisés hors de nos frontières, en acceptant éventuellement que certaines patientes franchissent celles-ci afin de les utiliser plus rapidement, si elles en ont les moyens. Une telle attitude susciterait, sans nul doute, de sérieuses réserves éthiques.

Les recherches susceptibles d'être réalisées dans ce cadre sont multiples.

Ainsi qu'il a déjà été souligné, certaines concernent l'ensemble des mesures associées à la stimulation de l'ovulation. Elles ne sont pas spécifiques de l'AMP puisqu'elles sont également mises en jeu pour des stimulations en dehors de toute AMP, stimulations dont il convient de souligner que les risques maternels et fœto-néonatals (ceux-ci essentiellement liés aux grossesses multiples) sont plus importants que ceux de l'AMP, alors qu'elles ne sont encadrées par aucune disposition législative ou réglementaire spécifique.

Dans ce domaine, comme dans celui de l'AMP, il faut reconnaître que la distinction entre technique éprouvée, technique en évaluation et technique en recherche, bien que parfois difficile, doit impérativement être établie et présentée comme telle aux bénéficiaires éventuels.

Nous considérons maintenant les problèmes spécifiques des études réalisées sur l'embryon.

Ces études sont régies par l'article 152.8 du Code de la Santé publique, qui :

— interdit « la conception *in vitro* d'embryons humains à des fins d'étude, de recherche ou d'expérimentation »,

— interdit « toute expérimentation sur l'embryon »,

— autorise « à titre exceptionnel des études sur l'embryon », à condition « qu'elles aient une finalité médicale et ne portent pas atteinte à l'embryon ».

Cette rédaction conduit donc à admettre le bien-fondé d'études, mais souligne la nécessité du respect dû à la personne humaine potentielle que constitue l'embryon.

Cette notion est introduite, en particulier, par l'affirmation de la finalité médicale de l'étude ; on soulignera, à ce sujet, la nécessité de procéder préalablement, ainsi qu'il est habituel, à toutes les expérimentations animales pertinentes, tout en reconnaissant l'éventualité de situations spécifiques à l'espèce humaine pour la compréhension et le traitement desquelles l'expérimentation animale est de peu de secours (grossesse extra-utérine, par exemple).

En tout état de cause, la finalité médicale de l'étude, comme son respect des principes éthiques et scientifiques, doit être contrôlée par les organismes compétents.

Il est souhaitable que les décrets d'application de la loi lèvent un certain nombre d'ambiguïtés, qui actuellement perturbent les activités de recherche, sans pour autant garantir formellement le respect dû à l'embryon. Ces ambiguïtés concernent :

1 — Les caractéristiques des embryons sur lesquels ces études peuvent être réalisées : s'agit-il des embryons morts et, en ce cas, quels sont les critères objectifs permettant d'affirmer cette mort, comme c'est le cas après la naissance ?
S'agit-il des embryons ayant perdu leur capacité de survie et de développement, et sur quels critères fonder cette appréciation ?

2 — La définition de « l'atteinte » susceptible d'être portée à l'embryon et la prise en considération des conséquences éventuelles de cette atteinte.
Le mot atteinte ne semble pas désigner toute procédure invasive, puisque, par ailleurs (article 162-17), « le diagnostic biologique effectué à partir de cellules prélevées sur l'embryon *in vitro* », ou diagnostic préimplantatoire, est autorisé et que celui-ci comporte un prélèvement cellulaire.
Ce terme « atteinte » semble donc se référer plutôt à un acte qui, quel que soit son caractère, invasif ou non, altère durablement la constitution embryonnaire ou les aptitudes du zygote à se développer. Ce point doit impérativement être clarifié.

3 — L'éventualité de l'implantation après étude.
La présomption de « non-atteinte » de l'embryon est-elle liée à un objectif d'implantation et comporte-t-elle donc l'obligation d'une telle implantation ?
S'il n'y a pas obligation d'implantation, quelle est la finalité de l'obligation de non-atteinte ?
S'il y a obligation d'implantation, la présomption de non-atteinte, alors qu'aucune étude complémentaire, elle-même incompatible avec l'implantation, n'a permis de confirmer cette présomption, est-elle éthiquement suffisante pour autoriser une telle implantation ? Inversement, le maintien et l'explicitation d'une telle obligation ne sont-ils pas susceptibles de rendre *de facto* toute étude irréalisable ?

4 — Les dispositions concernant les études sur les embryons s'appliquent-elles, également, aux recherches sur le processus de fécondation ?

Il est particulièrement important que ces points soient précisés, autant pour éviter la survenue de dérives regrettables que pour permettre aux générations futures de bénéficier, avec le minimum de risques, des progrès des connaissances scientifiques et médicales.

*Bull. Acad. Natle. Méd.*, 1996, *180*, n° 2, 397-417, séance du 13 février 1996

# BIBLIOGRAPHIE COMPLÉMENTAIRE


— Barker D.J.P., Bull A.R., Osmond C., Simmonds S.J. — Fetal and placental size and risk of hypertension in adult life. *BMJ*, 1990, *301*, 259-262.

— Human fertilisation and embryology act, 1990.

— Dommergues M., Nisand I., Mandelbrot L., Isfer E., Radunovic N., Dumez Y. — Embryo reduction in the management of multifetal pregnancies following infertility therapy : obstetrical risks and perinatal benefits are related to the operative strategy. *Fertil. Steril.*, 1991, *55*, 801-811.

— Garrel M., Blondel B. — Assessment at 1 year of the psychological consequences of having triplets. *Hum. Reprod.*, 1992, *7*, 729-732.

— Exposition au diéthylstilboestrol *in utero*. Prise en charge par le praticien. Ministère de la Santé, Direction Générale de la Santé, 1992.

— Antoine J.M., Salat-Baroux J. — Les syndromes d'hyperstimulation ovarienne. *Contracept. Fertil. Sex.*, 1993, *21*, 201-207.

— Evans M.I., Dommergues M., Wapner R.J., Lynch L., Dumez Y., Goldberg J.D. et *al.* — Efficacy of transabdominal multifetal pregnancy reduction collaborative experience among the world's largest centers. *Obstet. Gynecol.*, 1993, *82*, 61-66.

— Barker D.J.P. — Mothers, babies and disease in later life. London, *BMJ Publishing*, 1994.

— Brenner B.M., Chertow G.M. — Congenital oligonephropathy and the etiology of adult hypertension and progressive renal injury. *Am. J. Kidney Dis.*, 1994, *23*, 171-175.

— Comité consultatif national d'éthique pour les sciences de la vie et de la santé. — Avis sur l'évolution des pratiques d'Assistance Médicale à la Procréation, 1994, n° 42, 3-6.

— Comité consultatif national d'éthique pour les sciences de la vie et de la santé. — Rapport du groupe de travail sur l'Assistance Médicale à la Procréation, 1994, n° 42, 7-14.

— Sureau C., Shenfield F. — Aspects éthiques de la reproduction humaine. Colloque FIGO. Paris, UNESCO, 1994.

— Auroux M. — L'Assistance Médicale à la Procréation. *Rev. du Prat.*, 1995, *45*, 1457-1459.

— Auroux M., Dulioust E. — Environnement, spermatozoïde et descendance. *Médecine-sciences*, 1995, *11*, 571-577.

— Benagiano G., Rowe P.J. — Potential health hazards of assisted human reproduction : assisted reproduction : a not so bright future. *Hum. Reprod.*, 1995, *10*, 1324-1326.

— Hocke C., Guyon F., Dulucq M.C., Grenier N., Papaxanthos A., Leng J.J. — Accidents thrombo-emboliques et hyperstimulation ovarienne. *J. Gynecol. Obstet. Reprod.*, 1995, *24*, 691-696.

— Jenkins J.M., Mathur R.S., Cooke I.D. — The management of severe ovarian hyperstimulation syndrome. *Brit. J. Obstet. Gynecol.*, 1995, *102*, 2-5.

— Kaminski M., Garel M. — Potential health hazards of assisted human reproduction.

Infertility, assisted reproduction programmes and public health. *Hum. Reprod.*, 1995, *10*, 1328-1329.

— Menezo Y., Dale B. — Potential health hazards of assisted human reproduction. Paternal contribution to successful embryogenesis. *Hum. Reprod.*, 1995, *10*, 1326-1328.

— Seamark R.F., Robinson J.S. — Potential health hazards of assisted human reproduction. Potential health problems stemming from assisted reproduction programmes. *Hum. Reprod.*, 1995, *10*, 1321-1322.

— Tarin J.J., Cano A. — Potential health hazards of assisted human reproduction : effects of manipulations *in vitro* of human oocytes and embryos on the birthweight of the resultant babies. *Hum. Reprod.*, 1995, *10*, 1322-1324.

— Symposium on intracytoplasmic sperm injection. Queensland-Australia, 2-4 October 1994. *Reprod. Fertil. Develop.*, 1995, *7*, 135-311.

— Symposium « Andrologie in the nineties ». Genk-Belgium, 18-21 October 1995. *Hum. Reprod.*, 1995, *10*, suppl. 1, 1-157.

— Human fertilisation and embryology authority. 4th annual report, 1995.

— Léon D.A., Koupilova I., Lithell H.O., Berglund L., Mohsen R., Vàgerö D., Lithell U., McKeigue P.M. — Failure to realise growth potential *in utero* and adult obesity in relation to blood pressure in 50 year old Swedish men. *BMJ*, 1996, *312*, 401-406.

*Bull. Acad. Natle. Méd.*, 1996, *180*, n° 2, 397-417, séance du 13 février 1996

# RECOMMANDATIONS

## 1. Nécessité de définir la phase de développement de la technique d'Assistance Médicale à la Procréation (AMP) considérée

Les progrès successifs ont entraîné une diversification des techniques allant des plus simples, comme l'insémination artificielle, aux plus compliquées, comme la micro-injection du spermatozoïde dans l'ovocyte. Le problème de leurs risques respectifs se pose de ce fait en termes très différents. Il conviendrait d'en tenir compte en distinguant : **1/ les techniques en recherche ; 2/ les techniques en évaluation ; 3/ les techniques éprouvées**. Cette distinction devrait résulter d'une réflexion menée conjointement par les milieux professionnels et les autorités administratives compétentes.

## 2. Informations aux couples

Les informations prévues par la loi n° 94-654, article 152-10, devraient mentionner :

2.1. la nature de la technique envisagée et sa phase de développement ;

2.2. les risques particuliers, soit pour la femme, du fait de la stimulation ovarienne, soit pour l'enfant dans certaines indications masculines d'ordre génétique. Dans cette dernière situation le couple devrait bénéficier d'un conseil génétique préconceptionnel.

## 3. Risques pour la mère

3.1. Les stimulations ovariennes exposent à des complications rares mais graves. Les médecins qui emploient ces techniques doivent être parfaitement formés et alertés sur les conséquences possibles de ces actes.

3.2. Le plus grand danger réside dans l'utilisation des méthodes de stimulation ovarienne en dehors de la fécondation *in vitro* dont on connaît mal le nombre, les résultats et les complications puisqu'elles ne sont pas soumises à la réglementation de la loi sur l'AMP.

3.3. Par ailleurs, le nombre d'embryons replacés doit être limité à deux ou trois en fonction de certaines données, telles que l'âge de la femme et les indications.

3.4. Des recherches à long terme, sur l'avenir des femmes ayant subi des stimulations ovariennes, doivent être poursuivies en raison des incertitudes sur le risque de cancer de l'ovaire ou du sein.

**4. Risques pour l'enfant**

4.1. L'évaluation de ces risques ne peut se limiter à l'observation du taux et de la nature des malformations à la naissance. Des risques à plus long terme ne peuvent être éliminés ; ils devraient faire l'objet d'une attention particulière. Toutefois, il faut souligner que toute mesure de suivi doit être soumise à la condition impérative d'une participation volontaire des parents et doit éviter, chez les enfants, toute inquiétude et sentiment de singularité.

4.2. La mise en évidence de risques secondaires éventuels repose sur deux ordres de démarches épidémiologiques.

La première est le suivi de cohortes. Cette démarche a été engagée par les milieux professionnels. Les moyens nécessaires au développement de ces enquêtes doivent être renforcés. Le suivi d'une cohorte, pour utile qu'il soit, comporte une double limite : d'une part, la détection porte essentiellement sur des effets recherchés ; d'autre part, elle est généralement limitée dans le temps.

La seconde démarche, visant à mettre en évidence des effets imprévisibles retardés, implique la réalisation d'enquêtes cas-témoin. Celles-ci supposent la détection préalable d'un élément de suspicion. Le caractère *a priori* imprévisible de ce signal exige un système d'alerte très large et non spécifique.

On devrait également étudier les moyens propres à assurer une traçabilité afin de pouvoir répondre, éventuellement, aux interrogations des intéressés en cas de mise en évidence d'un risque particulier. A cet effet, tous les centres d'AMP doivent conserver, dans leurs archives, le dossier médical et technique détaillé de toutes les tentatives d'AMP. Il serait indispensable qu'un dossier type, incluant tous les renseignements utiles, soit préparé par la profession, pour que l'on puisse distinguer les effets éventuels liés aux indications de ceux liés aux conditions techniques.

**5. Nécessité de la recherche**

5.1. La recherche, dans ce domaine, doit répondre à deux objectifs :

— l'amélioration des résultats qualitatifs et quantitatifs de l'AMP ; elle devrait, en particulier, viser à développer toute méthode propre à réduire le recours à la congélation des embryons.

— le développement des connaissances physiologiques et pathologiques sur la fonction de reproduction de façon à aboutir à des méthodes de prévention et de traitement de l'infertilité, aussi bien masculine que féminine.

5.2. L'intérêt d'expérimentations animales préalables à toute innovation en clinique humaine doit être souligné. Il faut reconnaître, toutefois, que certaines situations sont spécifiques de l'espèce humaine, ce qui pose

la question d'une recherche propre à cet âge de la vie. Les dispositions législatives récentes (Loi 94-654, article 152-8), concernant les « études sur l'embryon », imposent des précisions quant aux limites de ces études, en particulier la définition de la notion « d'atteinte à l'embryon ».

*
* *

L'Académie, saisie dans sa séance du mardi 13 février 1996, a adopté ces recommandations.

MOTS-CLÉS : TECHNIQUES REPRODUCTION, effets indésirables. RISQUE.
KEY-WORDS (Index Medicus) : REPRODUCTION TECHNIQUES, adverse effects. RISK.

*Bull. Acad. Natle. Méd.*, 1996, *180*, n° 2, 419-436, séance du 13 février 1996

**RAPPORT**

*au nom de la Commission XI (Climatisme — Thermalisme — Eaux minérales)*

# Sur la demande d'autorisation d'exploiter comme eau minérale naturelle, à l'émergence, après transport à distance et mélange, l'eau des captages de Mey-Est et de Mey-Ouest situés à Saint-Gervais-les-Bains (Haute-Savoie)

André CORNET

Par lettre en date du 30 octobre 1995, le ministre de la Santé publique et de l'Assurance maladie, sous-direction de la Veille sanitaire, sollicite l'avis de l'Académie nationale de médecine sur la demande d'autorisation d'exploiter à l'émergence, après transport à distance et mélange, l'eau des captages de Mey-Est et de Mey-Ouest situés à Saint-Gervais-les-Bains (Haute-Savoie).

Cette demande est présentée par le maire de Saint-Gervais, M. Hottegindre, en application du décret du 28 mars 1957 portant règlement d'administration publique sur la police et la surveillance des eaux minérales.

L'autorisation d'exploiter les eaux thermales de Saint-Gervais a été donnée le 28 mars 1884 par arrêté ministériel, après avis favorable de l'Académie de médecine le 11 mars de la même année, pour les sources Gontard, de Mey et Torrent. Au cours des huit années qui suivirent, la station connut une importante fréquentation, jusqu'à la catastrophe survenue dans la nuit du 11 au 12 juillet 1892. L'établissement thermal, ainsi qu'un hôtel édifié à son voisinage, furent emportés par la crue subite du torrent grossi des eaux provenant du glacier de Bionassay où venait de se rompre une poche de 200 000 $m^3$, ce désastre faisant 175 victimes.

L'établissement reconstruit, l'exploitation devait reprendre jusqu'à la Seconde Guerre mondiale. En 1940, la situation nouvelle mettait fin, pour de nombreuses années, à la crénothérapie à Saint-Gervais.

En 1958, au prix d'un effort très important, la commune décidait de remettre en état le domaine thermal et de le faire gérer par la Société des Thermes de Saint-Gervais. A cette époque, seule la source Gontard avait été récupérée, permettant d'assurer les soins aux malades atteints d'affections cutanées et ORL.

Au cours des décennies suivantes, le nombre des curistes devait augmenter notablement. Au nombre de ceux-ci, on comptait de nombreux convalescents de brûlures porteurs de cicatrices, chéloïdes et rétractions cutanées, constituant une nouvelle et remarquable indication de la technique thermale.

La source Gontard, de faible débit, ne suffisant plus à assurer les soins habituels, il était souhaitable de procéder à un recaptage de la ressource par forage poussé aussi profondément qu'il paraissait nécessaire.

Le Bureau de Recherches géologiques et minières (BRGM) a donc été chargé d'entreprendre les travaux en tenant compte du système des failles favorisant la remontée des eaux profondes, situées dans un segment très limité du Parc thermal.

En 1984, deux forages furent couronnés de succès, le premier, poussé à 175 m, pour la source de Mey-Est, le second à 152 m pour la source de Mey-Ouest, tous deux atteignant la couche des quartzites. Le captage est protégé, dans la traversée des couches alluviales superficielles, par un tubage inox de 168 mm de diamètre jusqu'à 15 et 16 m pour chacune des sources.

Ces deux forages donnent, l'un et l'autre, un débit artésien de 2 à 3 $m^3/h$. Par pompage de longue durée, le débit stabilisé se maintient à 7 $m^3/h$.

La température des deux sources ne diffère guère d'un jour à l'autre : 28,9°C à 30,1°C pour de Mey-Est, 30,9°C à 31,5°C pour de Mey-Ouest.

Les canalisations de transport de l'eau, depuis chaque forage jusqu'à l'entrée de l'établissement thermal, sont réalisées en PVC alimentaire. Elles comportent des appareils de mesure et de contrôle et sont munies d'une vanne et d'un robinet de prélèvement, puis rejoignent un collecteur général de distribution de 75 mm de diamètre. Le mélange se trouve réalisé à l'entrée de l'établissement thermal.

Il faut signaler que la source Gontard est restée indépendante du réseau de distribution des sources de Mey-Est et Ouest. Elle n'est plus exploitée actuellement.

## Périmètre de protection

Celui-ci est situé dans le parc thermal, donc isolé de toute habitation, ainsi le périmètre sanitaire des deux sources est-il remarquablement protégé. Edifié en 1992, le nouvel établissement thermal se trouve en aval des forages.

**L'étude physico-chimique** de l'eau des sources de Mey-Est et Ouest a été effectuée par le laboratoire de l'Institut Pasteur de Lyon. Ces eaux tièdes de pH 7,2, très minéralisées, sont de type sulfaté chloruré sodique et calcique. De composition très proche l'une de l'autre, elles comptent respectivement 4,29 g et 4,33 g d'extrait sec au litre, contiennent de fortes quantités de sulfates

1 760 mg/l pour de Mey-Est, 1 770 mg/l pour de Mey-Ouest ainsi que des sulfures, soit respectivement 0,101 et 0,077 millimoles par litre. La teneur en lithium est importante, 8 mg et 7,6 mg/l.

L'analyse ne révèle ni nitrates ni nitrites. Des résultats analogues ont été constatés au Laboratoire national des Etudes hydrologiques et thermales, par M. Popoff.

Au demeurant, par comparaison avec la source Gontard exploitée jusqu'à ces dernières années, les différences portent sur la thermalité. Celle-ci a une température supérieure de 7° (39,4°C). Sa minéralisation est un peu plus forte, atteignant 4,59 g/l. En revanche, sa composition est très voisine de celle des sources de Mey-Est et Ouest.

**Les analyses bactériologiques**, effectuées à de nombreuses reprises depuis 1991 par l'Institut Pasteur de Lyon sur les prélèvements opérés à l'émergence de chaque forage, n'ont pas décelé de germes pathogènes.

**Les études concernant la radioactivité** ont permis de conclure que l'emploi de l'eau des deux sources pouvait être envisagé sans restriction.

Compte tenu de ces différents résultats, le ministère de la Santé a décidé d'accorder une autorisation provisoire d'exploitation, le 4 mai 1992, pour une durée d'un an. En conséquence, les soins dispensés par le corps médical dans l'établissement entièrement neuf de Saint-Gervais ont donné lieu à d'intéressantes observations dans le domaine des affections cutanées, notamment dans le cas des séquelles de brûlures tégumentaires mais aussi dans celui de la pathologie ORL. Les résultats obtenus, au cours de la première année d'exploitation, ont conduit le ministère de la Santé à prolonger, d'une nouvelle année, l'autorisation provisoire accordée le 15 décembre 1993.

La Commission XI, réunie le 23 janvier 1996 sous la présidence du Pr Pierre Desgrez, propose à l'Académie nationale de médecine de donner un avis favorable à la demande d'autorisation d'exploiter comme eau minérale naturelle, à l'émergence, après transport à distance et mélange, l'eau des captages de Mey-Est et de Mey-Ouest, situés à Saint-Gervais-les-Bains (Haute-Savoie).

*
* *

L'Académie, saisie dans sa séance du mardi 13 février 1996, a adopté ce rapport.

---

MOTS-CLÉS : EAU MINÉRALISÉE. SAINT-GERVAIS-LES-BAINS (Haute-Savoie). Sources : Mey-Est, Mey-Ouest.

KEY-WORDS (Index medicus) : MINERAL WATERS. FRANCE.

*Bull. Acad. Natle. Méd.*, 1996, *180*, n° 2, 419-436, séance du 13 février 1996

# RAPPORT * DU LABORATOIRE NATIONAL DES ÉTUDES HYDROLOGIQUES ET THERMALES (MINISTÈRE DE LA SANTÉ PUBLIQUE ET DE L'ASSURANCE MALADIE)

Georges POPOFF **

Par pétition en date du 14 mars 1991, complétée les 3 juin et 19 juillet 1991, M. Hottegindre, maire de la commune de St-Gervais-les-Bains, sollicite, en son nom, l'autorisation d'exploiter comme eau minérale naturelle, à l'émergence, après transport à distance et mélange, l'eau de deux forages dénommés de Mey-Est et de Mey-Ouest situés sur la commune de St-Gervais-les-Bains (Haute-Savoie).

Ces demandes sont présentées en application du décret du 28 mars 1957, portant règlement d'administration publique sur la police et la surveillance des eaux minérales.

## Historique

Les sources de St-Gervais ont été découvertes en 1806 par M. Gontard, notaire à St-Gervais. On dénombrait, à cette époque, plusieurs sources d'eau minérale : la source du Milieu ou Gontard, une autre réservée pour la boisson dite de Mey, et quelques autres, moins connues, comme la source du Torrent ou source Sulfureuse et la Ferrugineuse.

Les premières traces d'une autorisation ont été retrouvées dans les archives sardes sous forme d'une ordonnance, en date du 13 septembre 1842, de l'Intendant de la province du Faucigny prononçant, pour cause d'utilité publique, l'expropriation au bénéfice du propriétaire des terrains avoisinant la source.

Mais le premier texte officiel est l'arrêté du 28 mars 1884 [1], qui autorise l'exploitation des sources Gontard, de Mey et Torrent par la Compagnie Générale d'Eau Minérale et de Bains de Mer.

Ces sources ont été exploitées dans un bâtiment à usage de bains, ainsi que dans des bâtiments plus importants, qui existaient en 1860. *Le dictionnaire général des eaux minérales et d'hydrologie médicale* (1860) cite l'étude du docteur Payen faite sur les eaux de Saint-Gervais en 1854, où existait un établissement thermal avec cabinet de bains, appareils de douches et étuves et les indications de la cure : « effets dérivatifs, d'une part, au moyen de l'eau en boisson ; action

* En date du 11 septembre 1995.

** Directeur.

1. Pris après avis favorable de l'Académie de médecine, le 11 mars 1884.

sédative et topique, de l'autre dans le bain ; telle paraît pour nous la caractéristique formelle de la cure suivie à Saint-Gervais ».

Dans la nuit du 11 au 12 juillet 1892, le front du petit glacier de Tête Rousse laissa s'échapper 200 000 $m^3$ d'eau qui détruisirent la vallée, et notamment la plus grande partie de l'établissement thermal, faisant 175 victimes.

L'établissement sera reconstruit plus en aval et les sources seront recaptées, les griffons des sources Gontard et de Mey étant, à cette occasion, réunis.

En 1934, Charles Cuau fait construire une nouvelle chambre de captage isolant l'eau minérale des infiltrations d'eaux superficielles et assurant l'isolation thermique de la source. L'eau a ainsi retrouvé une composition et une température plus stables, son captage demeurant inchangé depuis cette époque, en dehors de l'entretien courant, notamment la réfection des enduits. Par contre, les sources du Torrent et Ferrugineuse ont été abandonnées et leurs autorisations rapportées.

En 1958, la commune, qui était propriétaire du domaine thermal, fut amenée à confier son exploitation à la Société des Thermes de St-Gervais.

Après la catastrophe de 1892, les captages des sources, notamment Gontard et de Mey, avaient été recouverts par une dizaine de mètres d'alluvions provenant du torrent et se trouvaient, de ce fait, réunis. Aucune autorisation ne vint cependant officialiser une situation due aux caprices de la nature, l'autorisation de 1884, correspondant à des captages aujourd'hui disparus, étant considérée comme caduque. Plus inquiétante et il fallait peut-être y voir l'explication, la faible épaisseur d'alluvions perméables recouvrant ce nouveau captage ne permettait aucune protection sanitaire efficace. A cela, il convenait de tenir compte de l'urbanisation récente, en amont des captages, avec la création des stations de sports d'hiver de St-Gervais et des Contamines, qui ne faisait qu'augmenter les risques. La régularisation de la situation administrative de la source Gontard achoppait donc sur l'épineux problème de sa protection sanitaire, compte tenu de son contexte géologique. C'est ainsi que la commune s'orienta vers un recaptage de la source, par forage.

En 1987, une étude hydrogéologique approfondie du système thermal de St-Gervais a permis de déterminer deux points d'implantation de forage (SG1 et SG2), à l'arrière de l'établissement thermal et proche de la gorge du Bonnant.

La station thermale de Saint-Gervais est reconnue pour le traitement des affections dermatologiques et respiratoires, ainsi que pour la parodontologie. Ouvert dès avril et jusqu'en septembre pour l'ORL, en novembre pour la dermatologie, l'établissement, reconstruit en 1992, a accueilli 4 404 curistes en 1994.

La demande d'autorisation, présentée par la commune de St-Gervais pour les deux forages dénommés de Mey-Est (SG1) et de Mey-Ouest (SG2), est l'aboutissement d'une longue démarche visant à assurer au nouvel établissement thermal une ressource en eau minérale suffisante en quantité et fiable en qualité.

*Bull. Acad. Natle. Méd.*, 1996, *180*, n° 2, 419-436, séance du 13 février 1996

## Hydrogéologie des sources

Les formations géologiques, dans la région de St-Gervais, appartiennent au permotrias et au lias inférieur qui constituent la couverture sédimentaire collée sur les massifs cristallins externes du Mont-Blanc Aiguilles-Rouges. Le jeu d'un important réseau d'anciennes failles a permis la mise à jour du socle cristallin et des structures complexes, écailles et nappes de charriage.

A proximité des sources se trouvent plusieurs failles dont l'une, dite faille des sources, large d'une vingtaine de mètres, tronque les quartzites du permotrias de la rive droite du Bonnant. Les sources se trouvent ainsi le long de cette faille.

Schématiquement, on peut constater qu'à l'est de la vallée du Bonnant se situent les massifs cristallins du Mont-Blanc et à l'ouest les formations sédimentaires.

Le BRGM émet une hypothèse de circulation du système thermominéral différente de celle retenue dans les études antérieures. Selon cet organisme, l'eau s'infiltrerait au sud de St-Gervais au niveau du col du Joly, à une altitude d'environ 1 800 m. Au cours de son trajet souterrain, qui atteindrait la profondeur de 3 000 m, l'eau serait portée à une température élevée. Puis son passage au travers des roches cristallines lui acquerrait sa composition chimique, partiellement modifiée au cours de la phase ultime de remontée dans les quartzites laminés.

L'objectif du BRGM était, en conséquence, de recouper la venue thermale dans le système de failles, le plus profondément possible pour s'affranchir des influences des eaux superficielles.

## Les sources de St-Gervais

Les sources alimentant l'établissement thermal de St-Gervais se trouvent à l'extrémité du parc thermal, à l'endroit où le vallon se resserre pour aboutir à la gorge du Bonnant.

Les nouveaux captages SG1 et SG2 se situent dans le petit triangle situé à l'arrière de l'établissement thermal, entre la montagne et le torrent, à 50 m environ du captage Gontard actuel.

### La source de Mey-Est (SG1)

*Le captage*

Il est situé sur le territoire de la commune de St-Gervais, à 17 m environ de l'ancienne émergence Gontard, sur la parcelle cadastrée n° 1141.

Ses coordonnées Lambert sont les suivantes :

X = 938.940 Y = 108.930 Z = 610 NGF

Il a été foré en 1989 et les couches suivantes ont été rencontrées :

— de 0 à 20,3 m : des alluvions sablo-graveleuses, blocs de quartzites emballés, dont un de 3,5 à 7,5 m de profondeur. Niveau plus fin à la base.
— de 20,3 à 196 m : des quartzites gris-verts avec passages altérés rougeâtres à 37 m, 42 m, 45 m, 47m, 50 m, 60 m et 155 m.

Dans les quartzites, une première venue d'eau a été recoupée à 38 m, puis une seconde, artésienne, à 80 m de profondeur. Les principales venues d'eau se situent cependant entre 99 et 107 m, puis entre 165 et 175 m. Les alluvions présentes dans les 20 premiers mètres contiennent une nappe phréatique dont la température et la minéralisation sont anormales, ce qui indique un mélange d'eau superficielle et d'eau minérale. Ce fait est confirmé par l'influence du forage sur l'ancienne source Gontard 2, non exploitée.

Le forage est constitué de tubes concentriques dont les espaces annulaires sont entièrement cimentés.

Il a été réalisé de la façon suivante :

— de 0 à 31 m : foration au marteau fond de trou en diamètre 260 mm, puis en 219 mm à partir de 15 m. Tubage inox de 168 mm de diamètre avec cimentation de l'extrados ;

— de 31 à 170 m : foration au marteau fond de trou en diamètre 145 mm, trou nu ;

— de 170 à 196 m : foration au rotary en diamètre 145 mm.

La source est artésienne avec un débit de 2 à 3 $m^3/h$. Lors des essais de pompage longue durée, le niveau s'est stabilisé vers 28 m pour un débit de 6,9 $m^3/h$, le niveau se situant alors dans la partie tubée et cimentée.

Ainsi, le débit de pompage retenu pour la source de Mey-Est a été fixé à 6,5 $m^3/h$.

Le forage, implanté derrière l'ancien établissement thermal, est protégé par une petite construction maçonnée. Il est équipé d'une pompe immergée en acier inoxydable ainsi que l'ensemble des équipements de refoulement et de la tête de puits. Celle-ci comporte des passages pour la canalisation de refoulement, l'alimentation électrique de la pompe, les dispositifs de surveillance et de contrôle suivants : contrôle de niveau, électrodes de mise en marche automatique, débitmètre, température et conductivité. Les données sont recueillies sur une armoire de mesure et enregistrées.

*Bull. Acad. Natle. Méd.*, 1996, *180*, n° 2, 419-436, séance du 13 février 1996

La source de Mey-Ouest (SG2)

*Le captage*

L'objectif du forage était le contact quartzite-gypse. Celui-ci n'ayant pas été rencontré, la décision fut prise d'effectuer un second forage en direction de l'emplacement supposé de ce contact, soit à 15 m dans cette direction, à proximité de la source Gontard 2.

La tête du forage, dont l'accès s'effectue depuis l'ancien établissement thermal par une galerie, se trouve, de ce fait, enterrée.

Ses coordonnées Lambert sont les suivantes :

X = 938.950 Y = 108.920 Z = 610 NGF

Il a été foré en 1989 et les couches suivantes ont été rencontrées :

— de 0 à 16 m : des alluvions sablo-graveleuses fluvio-glaciaires ;

— de 16 à 168 m : des quartzites gris-verts avec des passages altérés rougeâtres à 27, 29, 33, 38, 41,5 à 42,5 m, 144 m, 145 à 152 m.

Dans les quartzites, une première venue d'eau a été recoupée à 21 m mais les principales venues d'eau se situent à des niveaux équivalents au forage de Mey-Est, sans que le contact avec les quartzites-gypses et cargneules n'ait été atteint.

Le forage est constitué de tubes concentriques dont les espaces annulaires sont entièrement cimentés.

Il a été réalisé de la façon suivante :

— de 0 à 23 m : foration au marteau fond de trou en diamètre 260 mm, puis tubage à l'avancement en diamètre 253 mm jusqu'à la cote — 16 m. Tubage inox de 165 mm de diamètre intérieur avec cimentation de l'extrados ;
— de 23 à 168 m : foration au marteau fond de trou en diamètre 162 mm, trou nu.

La source est artésienne, avec un débit de 2 à 3 $m^3/h$ comme pour de Mey-Est. Lors des essais de pompage longue durée, le niveau s'est stabilisé vers 20 m pour un débit de $7m^3/h$, le niveau se situant alors dans la partie tubée et cimentée.

Ainsi, compte tenu de ce qui précède, le débit de pompage retenu pour la source de Mey-Ouest a été fixé à $7m^3/h$.

La tête du forage est équipée de manière identique à celle de la source de Mey-Est.

*Périmètres sanitaires des 2 forages*

Le terrain sur lequel sont implantés les deux forages appartient à la commune de St-Gervais et se trouve libre de toute construction, hormis le

nouvel établissement thermal situé à quelques dizaines de mètres. Les environs immédiats de la source, avec notamment la gorge du Bonnant boisée sur 200 m de dénivellation, restent à l'état naturel, aucune activité humaine n'y étant signalée. Quant à l'agglomération de St-Gervais, elle se trouve à 800 m d'altitude sur la rive droite. En fait, l'influence de l'activité humaine ne peut se faire sentir que par le torrent du Bonnant, qui longe les sources.

L'établissement thermal est construit en aval des forages. Compte tenu du contexte géologique en place, des caractéristiques des ouvrages réalisés dans les règles de l'art (notamment le caractère artésien des sources et les cimentations annulaires convenables) et de l'absence de toute activité polluante dans le secteur de St-Gervais, le périmètre sanitaire proposé, pour les forages, sera limité à la parcelle n° 1141.

*Transport à distance et mélange*

Les nouveaux captages se trouvent à une cinquantaine de mètres au sud de l'ancien établissement thermal, qui était alimenté jusqu'alors avec l'eau de la source Gontard captée dans son sous-sol. Avec la reconstruction de l'établissement thermal, légèrement en aval du précédent, il est apparu judicieux, pour éviter une contamination des réseaux de distribution de l'eau, d'exploiter l'eau de ces deux captages à la place de la source Gontard.

Les canalisations de transport de l'eau, depuis chaque forage jusqu'à l'entrée de l'établissement thermal, sont réalisées en PVC alimentaire et comportent, en outre, des appareils de mesure et de contrôle. A cet endroit, les canalisations sont munies chacune d'une vanne et d'un robinet de prélèvement, puis rejoignent un collecteur général de distribution de 75 mm de diamètre, qui dirige l'eau vers les 2 buvettes et les bâches de stockage, d'où elle est distribuée dans les étages de soins.

On peut considérer que le transport proprement dit s'arrête aux vannes d'entrées dans l'établissement ; la suite du circuit relevant de la distribution dans l'établissement, à l'exception de l'alimentation des buvettes.

En ce qui concerne le mélange, celui-ci se trouve réalisé à l'entrée de l'établissement thermal. La source Gontard possède une arrivée, qui pourra être utilisée au cas où l'autorisation d'exploitation des sources de Mey-Est et de Mey-Ouest ne serait pas accordée.

*Utilisation de l'eau*

Le 15 décembre 1993, le ministre chargé de la Santé renouvelait, pour une durée d'un an, l'autorisation provisoire d'exploitation accordée, le 4 mai 1992, sous réserve d'un accroissement des contrôles réglementaires par le laboratoire agréé pour le contrôle des eaux minérales (Institut Pasteur de Lyon), ceci dans l'attente d'une autorisation définitive.

Cette première autorisation, provisoire, avait été accordée afin de pouvoir faire fonctionner le nouvel établissement thermal dans des conditions sanitaires

très satisfaisantes. En effet, il eût été regrettable d'alimenter les nouvelles installations avec une eau minérale polluée de temps à autre, ce qui n'aurait pas manqué de contaminer gravement les nouvelles installations.

Les caractéristiques physico-chimiques de l'eau se prêtent à une exploitation thermale en dermatologie (du fait de son isotonicité et de ses propriétés hémostatiques et cicatrisantes), pour toutes les dermatoses et allergies cutanéo-muqueuses et les séquelles cicatricielles de brûlures, d'accidents ou d'autres origines et, en ORL, pour le traitement des allergies respiratoires supérieures ou inférieures, les affections chroniques ou récidivantes des différents niveaux des voies respiratoires : nez, gorge, sinus ... et, enfin, les dysfonctionnements tubo-tympaniques et les affections de l'oreille moyenne. A noter également un service de parodontologie, pour le traitement des muqueuses buccales, qui fonctionne depuis son inscription par la Sécurité Sociale, en 1991.

Comme nous l'avons vu, l'établissement thermal est neuf et comporte, sur 5 000 $m^2$, deux niveaux nécessaires aux indications ci-dessus : au rez-de-chaussée, le traitement des voies respiratoires avec les pratiques thermales usuelles d'ingestion, les pratiques locales et les inhalations, c'est-à-dire des gargarismes, des pipettes, des douches nasales, des aérosols, les humages et pulvérisations et un vaporarium. Il comporte également un service de pédi-douche et vaporarium enfant, puisque l'établissement en accueille régulièrement. En outre, un cabinet médical permet au médecin spécialisé des pratiques médicales complémentaires comme le déplacement de Proetz et les insufflations tubo-tympaniques de gaz thermaux réalisées à la sonde d'Itard. Ces pratiques sont complétées par un petit service de kinésithérapie respiratoire pour la rééducation respiratoire ou le drainage bronchique. C'est à ce niveau que l'on trouve, également, le service de parodontologie comportant 4 pratiques usuelles comme l'ingestion, les pulvérisations de la cavité buccale, les douches gingivales ainsi que les projections filiformes buccales.

Au premier étage, se trouve le service dermatologie avec les pratiques classiques comme l'ingestion, les immersions, les pulvérisations, l'hydromassage par jets venturi et la projection filiforme : bains généraux et locaux, bains pour nourrissons, pulvérisations visage ou générale, ainsi que bains d'hydromassage. C'est dans ce service que sont traités les patients envoyés par les Centres français de Brûlés, dont les 4/5 vont à St-Gervais.

Pour toutes ces pratiques, l'établissement s'est attaché le concours d'un médecin-conseil, pour toutes les activités médicales ou sanitaires de l'établissement (à l'exclusion de toute consultation des curistes) ; à St-Gervais, exercent (à titre exclusivement libéral) 5 dermatologues qualifiés et 3 spécialistes en ORL, en plus des médecins généralistes de la station.

L'établissement est donc complet et ses activités aussi vastes que possible compte tenu des indications de la cure.

*Bull. Acad. Natle. Méd.*, 1996, *180*, n° 2, 419-436, séance du 13 février 1996

# ANALYSES

Conformément aux articles 4 et 12 du décret du 28 mars 1957, le Laboratoire national des études hydrologiques et thermales (anciennement de l'Agence du Médicament) a procédé à des prélèvements pour analyses bactériologiques, physico-chimiques (avec notamment la mesure sur place des espèces du soufre et de l'alcalinité) et radioactinologiques, aux points suivants :

— les 10 et 11 janvier 1994

- à l'émergence de chaque forage ;
- au point de mélange des sources de Mey-Est et de Mey-Ouest ;
- à l'émergence de l'ancienne source Gontard, à titre de comparaison.

— les 28 et 29 juin 1994

- à l'émergence de chaque forage ;
- au point de mélange des sources de Mey-Est et de Mey-Ouest ;
- au transport du mélange vers la buvette du service ORL ;
- au transport du mélange vers le service dermatologie.

## Analyses bactériologiques

Les analyses bactériologiques, effectuées à l'émergence de chaque forage, montrent que cette eau est très pure. La présence de germes aérobies revivifiables est faible, voire nulle, et il n'a pas été décelé de germes témoins de contamination fécale, de *Pseudomonas aeruginosa*, ni de *Legionella pneumophila* (tableau I).

Le mélange des eaux de chaque forage ne provoque aucune altération de leur qualité bactériologique, celle-ci demeurant très pure. Quant au transport par canalisation du mélange jusqu'aux points d'utilisation, il était satisfaisant dans le service dermatologie mais révélait la présence de *Pseudomonas aeruginosa* à la buvette du service ORL. Après des mesures de désinfection et des analyses de contrôle par l'Institut Pasteur de Lyon, agréé pour le contrôle des eaux minérales, la situation est redevenue normale [1].

## Analyses physico-chimiques

Les analyses physico-chimiques, effectuées sur l'eau des forages de Mey-Est et de Mey-Ouest, présentent de grandes similitudes : il s'agit essentiellement d'eaux tièdes dont les températures sont, respectivement, de 32 et 32,6°C, au

1. Note de la DDASS de Haute-Savoie, en date du 7 décembre 1994.

TABLEAU I. — Analyse bactériologique de l'eau des sources de Saint-Gervais (Haute-Savoie).

| Sources de *Saint-Gervais (74)* | Gontard émergence 11/1/94 | de Mey Est émergence 11/1/94 | de Mey Est émergence 28/6/94 | de Mey Ouest émergence 11/1/94 | de Mey Ouest émergence 28/6/94 | mélange de Mey point de mélange 11/1/94 | mélange de Mey point de mélange 28/6/94 | mélange de Mey ORL buvette 28/6/94 | mélange de Mey dermatologie 28/6/94 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Germes aérobies totaux revivifiables dans 1 ml | | | | | | | | | |
| *24 h à 37 °C* | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 1 | 7 | 40 | 4 |
| *72 h à 22 °C* | 0 | 0 | 1 | 0 | 8 | 1 | 17 | 147 | 64 |
| Coliformes totaux dans 250 ml | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Coliformes thermo-tolérants dans 250 ml | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Streptocoques fécaux dans 250 ml | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Spores de bactéries sulfito-réductrices dans 50 ml | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Pseudomonas aeruginosa dans 250 ml | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 46 | 0 |
| Légionella (dans 1000 ml) Légionella Pneumophila | < 50 | < 50 | < 50 | < 50 | < 50 | < 50 | < 50 | < 50 | < 50 |

pH proche de la neutralité (7,2-7,1), très minéralisées (4,29 et 4,33 g d'extrait sec au litre) avec une composition ionique globale de 67 milliéquivalents par litre et de type mixte sulfuré sulfaté-chloruré sodique et calcique, caractéristique des eaux minérales de Saint-Gervais (fig. 1 et tableau II a et b) [1]. Dans les deux cas, l'eau possède de fortes quantités de sulfates (1 760 et 1 770 mg/l) et de chlorures (922 et 910 mg/l), ce qui la rend particulièrement compatible avec les soins dermatologiques, en raison de son isotonicité marquée. Il s'agit d'une eau sulfurée (0,101 et 0,077 millimole par litre) dont les teneurs la place parmi le groupe des eaux relativement sulfurées, du moins nettement supérieures aux eaux des Pyrénées. Cette sulfuration est, sans conteste, un élément important pour le traitement des affections des voies respiratoires, puisqu'il reste aux services de soins suffisamment d'hydrogène sulfuré pour être actif.

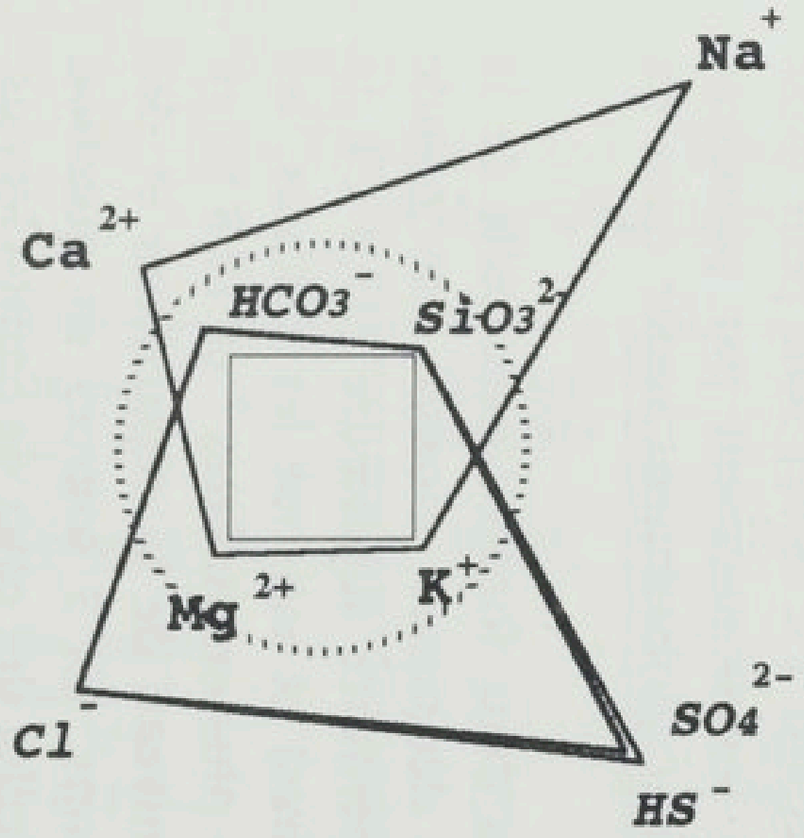
L'eau contient également du lithium en quantité importante (8 et 7,6 mg/l), du bore (6,9 et 6,2 mg/l), des fluorures (3,6 et 3,3 mg/l) et de faibles quantités de manganèse (0,4 mg/l). A noter, l'absence de nitrates et de nitrites.

Quelques légères différences, essentiellement au niveau de la sulfuration totale, apparaissent cependant entre les compositions physico-chimiques des deux sources. Elles ne peuvent être attribuées à l'analyse, celle-ci étant faite sur place à l'aide d'une technique spécifique, maintes fois éprouvée dans le thermalisme, mais probablement aux différences de niveau de captage de l'eau.

En ce qui concerne la stabilité de composition chimique de l'eau entre les prélèvements de janvier et de juin, on observe quelques légères différences, essentiellement au niveau du chlorure de sodium, qui accuse une baisse significative, due, semble-t-il, à l'arrêt prolongé des pompages entre octobre et janvier. La même remarque apparaît si l'on examine les valeurs des anions et cations qui baissent dans des proportions toutefois inférieures à 5 %. Cependant, ces fluctuations ne sont pas confirmées par les mesures des extraits secs et sulfatés, qui demeurent rigoureusement constants (< 1 %). On peut donc estimer que, dans les conditions normales de fonctionnement par pompage régulier aux débits fixés, les fluctuations semblent globalement rester dans les limites des 5 %, ce qui est très satisfaisant.

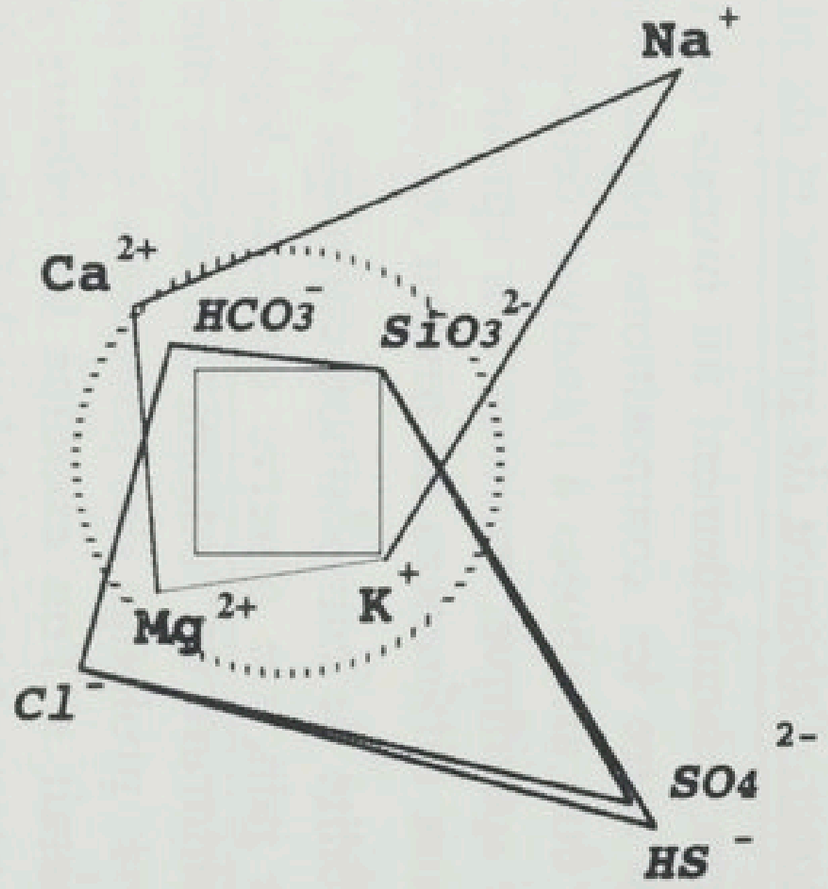
La comparaison des analyses des eaux des deux forages avec celle de la source Gontard, qui fut exploitée pendant des décennies, montre une grande analogie avec quelques différences sur la température supérieure (39,4°C), la minéralisation (4,59 g/l soit 8 % supplémentaires) et surtout les sulfates, les chlorures et sulfures (respectivement 27,3 % en plus en sulfates [2] et 17,8 % en moins en chlorures, 29,7 % en sulfures). Au niveau de la répartition et des proportions respectives des anions et des cations, les 3 sources en question présentent le même faciès de minéralisation que celui des eaux de Saint-Gervais, confirmant ainsi la même origine, mais des conditions de captage différentes.

1. Valeurs du second prélèvement.
2. Par rapport à la source de Mey-Est sur le prélèvement de juin 1994.



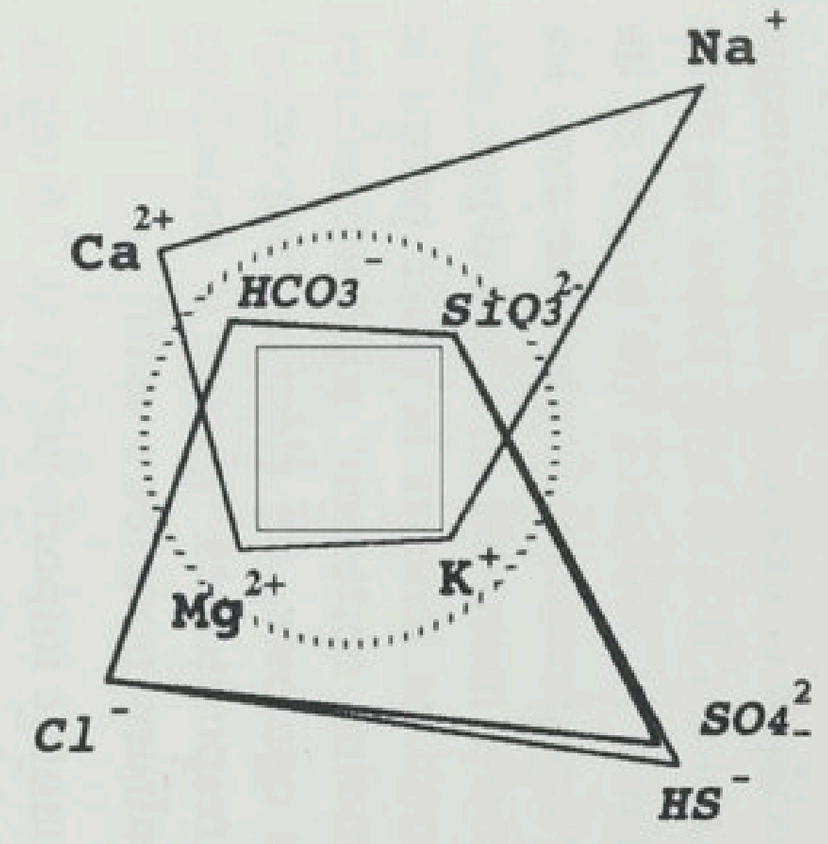

| Cations en mg/l | Anions en mg/l |
|---|---|
| Ca++ : 306 | HCO3- : 275,7 |
| K+: 31,9 | Cl- : 922 |
| Na+ : 1090 | SO4-- : 1760 |
| SiO2 : 44,2 | F- : 3,6 |
| Résidu sec : 4290 | ΣH2S: 0,101 mmole |

**Source de Mey-Est**
*27 juin 1994*




| Cations en mg/l | Anions en mg/l |
|---|---|
| Ca++ : 235 | HCO3- : 283,8 |
| K+: 33,2 | Cl- : 758 |
| Na+ : 1280 | SO4-- : 2240 |
| SiO2 : 45 | F- : 3,8 |
| Résidu sec : 4597 | ΣH2S: 0,071 mmole |

**Source Gontard**
*11 janvier 1994*




| Cations en mg/l | Anions en mg/l |
|---|---|
| Ca++ : 336,2 | HCO3- : 275,3 |
| K+: 29 | Cl- : 910 |
| Na+ : 1040 | SO4-- : 1770 |
| SiO2 : 43,1 | F- : 3,3 |
| Résidu sec : 4328 | ΣH2S: 0,077 mmole |

**Source de Mey-Ouest**
*27 juin 1994*

FIGURE 1. — Représentation graphique des sources de Saint-Gervais (Haute-Savoie). Analyses effectuées à l'émergence par le Laboratoire d'Hydrologie du Ministère de la Santé.

| Sources de Saint-Gervais (74)<br>Lieu de prélèvement<br>Date du prélèvement du Laboratoire | | Gontard<br>émergence<br>11/01/1994 | | de Mey-Est<br>émergence<br>11/01/1994 | | de Mey-Ouest<br>émergence<br>11/01/1994 | | de Mey Est+Ouest<br>point de mélange<br>11/01/1994 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Température en °C | | 39,4 | | 31,2 | | 31,6 | | 31,1 | |
| pH | | 7,1 | | 7,2 | | 7,1 | | 7,5 | |
| Conductivité en µS/cm à 20°C | | 5550 | | 5450 | | 5280 | | 5350 | |
| Alcalinité en ml N/10 | | 47,1 | | 45,2 | | 44,5 | | 47,4 | |
| Sulfuration totale en mMole/l | | 0,071 | | 0,107 | | 0,09 | | 0,102 | |
| SiO2 en mg/l | | 45 | | 44 | | 42 | | 42,5 | |
| CO2 libre en mg/l | | < 20 | | < 20 | | < 20 | | < 20 | |
| H2S dissous en mg/l | | 0,8 | | 1,2 | | 1,1 | | 0,7 | |
| Résidu sec à 180°C en mg/l | | 4597 | | 4269 | | 4248 | | 4303 | |
| Résidu sec à 260°C en mg/l | | 4596 | | 4265 | | 4245 | | 4300 | |
| Résidu sulfaté en mg/l | | 4964 | | 4740 | | 4691 | | 4731 | |
| | ANIONS en mg/l | mg/l | meq/l | mg/l | meq/l | mg/l | meq/l | mg/l | meq/l |
| HS- | Sulfhydrile | 1,6 | 0,048 | 2,3 | 0,070 | 1,9 | 0,057 | 2,7 | 0,082 |
| S2O3-- | Thiosulfates | < 0,5 | | < 0,5 | | < 0,5 | | < 0,5 | |
| SO4-- | Sulfates | 2240 | 46,638 | 1750 | 36,436 | 1785 | 37,164 | 1760 | 36,644 |
| OH- | Hydroxydes | 0,01 | 0,000 | 0,00 | 0,000 | 0,00 | 0,000 | 0,01 | 0,000 |
| CO3-- | Carbonates | 0,2 | 0,007 | 0,2 | 0,007 | 0,2 | 0,006 | 0,5 | 0,015 |
| HCO3- | Hydrogénocarbonates | 283,8 | 4,653 | 270,9 | 4,441 | 267,5 | 4,385 | 282,9 | 4,638 |
| H3SiO4 - | Silicates | 0,2 | 0,002 | 0,2 | 0,002 | 0,2 | 0,002 | 0,4 | 0,004 |
| Cl- | Chlorures | 758 | 21,382 | 1076 | 30,353 | 976 | 27,532 | 1012 | 28,547 |
| NO3- | Nitrates | < 1 | | < 1 | | < 1 | | < 1 | |
| NO2- | Nitrites | 0,02 | 0,000 | 0,03 | 0,001 | 0,03 | 0,001 | 0,03 | 0,001 |
| F- | Fluorures | 3,8 | 0,200 | 3,2 | 0,168 | 2,7 | 0,142 | 3 | 0,158 |
| PO4--- | Phosphates | 0,1 | 0,003 | 0,1 | 0,003 | 0,1 | 0,003 | 0,1 | 0,003 |
| | *Total anions* | | ***72,933*** | | ***71,480*** | | ***69,292*** | | ***70,093*** |
| | CATIONS en mg/l | | | | | | | | |
| Ca++ | Calcium | 235 | 11,727 | 281 | 14,002 | 305 | 15,220 | 300 | 14,970 |
| Mg++ | Magnésium | 35,5 | 2,919 | 32 | 2,632 | 42,7 | 3,512 | 38,5 | 3,166 |
| K+ | Potassium | 33,2 | 0,849 | 31,7 | 0,811 | 28 | 0,716 | 28,2 | 0,721 |
| Na+ | Sodium | 1280 | 55,652 | 1190 | 51,739 | 1130 | 49,130 | 1140 | 49,565 |
| Li+ | Lithium | 8,8 | 1,268 | 8,7 | 1,254 | 7,9 | 1,138 | 8,3 | 1,196 |
| Fe++ | Fer | 0,008 | 0,000 | 0,008 | 0,000 | 0,1 | 0,004 | 0,056 | 0,002 |
| Mn++ | Manganèse | 0,4 | 0,015 | 0,4 | 0,015 | 0,4 | 0,015 | 0,4 | 0,015 |
| Sr++ | Strontium | 8,3 | 0,189 | 9,9 | 0,226 | 10,1 | 0,231 | 10,2 | 0,233 |
| NH4+ | Ammonium | 1,9 | 0,043 | 1,7 | 0,039 | 1,7 | 0,039 | 1,8 | 0,041 |
| | *Total cations* | | ***72,663*** | | ***70,717*** | | ***70,003*** | | ***69,909*** |
| | ELEMENTS TRACES en µg/l | | | | | | | | |
| Al | Aluminium | 12 | | 5 | | 8 | | 7 | |
| As | Arsenic | < 5 | | < 5 | | < 5 | | < 5 | |
| B | Bore | 6650 | | 7000 | | 6500 | | 6600 | |
| Cd | Cadmium | < 1 | | < 1 | | < 1 | | < 1 | |
| Cr | Chrome | < 1 | | < 1 | | < 1 | | < 1 | |
| Cu | Cuivre | < 5 | | < 5 | | < 5 | | < 5 | |
| Pb | Plomb | < 1 | | < 1 | | < 1 | | < 1 | |
| Zn | Zinc | < 5 | | < 5 | | < 5 | | < 5 | |

TABLEAU II a. — Analyse physico-chimique de l'eau de Saint-Gervais - premier prélèvement.

Il semble donc que le recaptage de la source Gontard ait permis de recueillir une eau plus sulfurée, moins chaude de 7°C, mais de faciès similaire pour des eaux d'origine plus profonde. Si l'on évalue le bilan global (aspects positifs par rapport aux inconvénients du recaptage), on note une sulfuration et une salinité plus importantes qui s'effectuent au détriment de la baisse de température, contraignant l'exploitant à réchauffer légèrement l'eau pour les usages externes. Quant à la protection sanitaire et au débit disponible pour le nouvel établissement, leurs avantages sont évidents.

Le transport de l'eau vers les services de soins, que ce soit en dermatologie où l'eau du mélange est légèrement réchauffée ou en ORL et aux buvettes, n'appelle pas de commentaires de ma part, les conditions étant satisfaisantes

TABLEAU II b. — Analyse physico-chimique de l'eau de Saint-Gervais - deuxième prélèvement.

| Sources de Saint-Gervais (74) | | de Mey-Est | | de Mey-Ouest | | de Mey Est+Ouest | | de Mey Est+Ouest | | de Mey Est+Ouest | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lieu de prélèvement | | émergence | | émergence | | mélange collecteur | | mélange ORL | | baignoire dermatologie | |
| Date du prélèvement du Laboratoire | | 27/06/1994 | | 27/06/1994 | | 27/06/1994 | | 28/06/1994 | | 28/06/1994 | |
| Température en °C | | 32,0 | | 32,6 | | 31,9 | | 31,7 | | 38,6 | |
| pH | | 7,2 | | 7,1 | | 7,1 | | 7,1 | | 7,2 | |
| Conductivité en µS/cm à 20°C | | 5400 | | 5330 | | 5370 | | 5360 | | 5330 | |
| Alcalinité en ml N/10 | | 46 | | 45,7 | | 44,3 | | 43,8 | | 41,3 | |
| Sulfuration totale en mMole/l | | 0,101 | | 0,077 | | 0,095 | | 0,091 | | 0,032 | |
| SiO2 en mg/l | | 44,2 | | 43,1 | | 43,5 | | 46,2 | | 43,6 | |
| CO2 libre en mg/l | | < 20 | | < 20 | | < 20 | | < 20 | | < 20 | |
| H2S dissous en mg/l | | 1,1 | | 0,9 | | 1,1 | | 1,1 | | 0,3 | |
| Résidu sec à 180°C en mg/l | | 4290 | | 4328 | | 4297 | | 4291 | | 4295 | |
| Résidu sec à 260°C en mg/l | | 4259 | | 4300 | | 4227 | | 4264 | | 4265 | |
| Résidu sulfaté en mg/l | | 4691 | | 4724 | | 4700 | | 4674 | | 4694 | |
| | ANIONS en mg/l | mg/l | meq/l | mg/l | meq/l | mg/l | meq/l | mg/l | meq/l | mg/l | meq/l |
| HS- | Sulfhydrile | 2,3 | 0,070 | 1,6 | 0,049 | 2,0 | 0,061 | 1,9 | 0,059 | 2,3 | 0,070 |
| S2O3-- | Thiosulfates | < 0,5 | | < 0,5 | | < 0,5 | | < 0,5 | | < 0,5 | |
| SO4-- | Sulfates | 1760 | 36,644 | 1770 | 36,852 | 1745 | 36,331 | 1740 | 36,227 | 1740 | 36,227 |
| OH- | Hydroxydes | 0,00 | 0,000 | 0,00 | 0,000 | 0,00 | 0,000 | 0,00 | 0,000 | 0,00 | 0,000 |
| CO3-- | Carbonates | 0,2 | 0,008 | 0,2 | 0,006 | 0,2 | 0,006 | 0,2 | 0,006 | 0,2 | 0,008 |
| HCO3- | Hydrogénocarbonates | 275,7 | 4,520 | 275,3 | 4,513 | 266,0 | 4,361 | 263,1 | 4,313 | 275,7 | 4,520 |
| H3SIO4 - | Silicates | 0,2 | 0,002 | 0,2 | 0,002 | 0,2 | 0,002 | 0,2 | 0,002 | 0,2 | 0,002 |
| Cl- | Chlorures | 922 | 26,008 | 910 | 25,670 | 908 | 25,614 | 902 | 25,444 | 904 | 25,501 |
| NO3- | Nitrates | < 1 | | < 1 | | < 1 | | < 1 | | < 1 | |
| NO2- | Nitrites | < 0,02 | | < 0,02 | | < 0,02 | | < 0,02 | | < 0,02 | |
| F- | Fluorures | 3,6 | 0,189 | 3,3 | 0,174 | 3,4 | 0,179 | 3,5 | 0,184 | 3,4 | 0,179 |
| PO4--- | Phosphates | 0,5 | 0,016 | 0,5 | 0,016 | 0,5 | 0,016 | 0,5 | 0,016 | 0,3 | 0,009 |
| | *Total anions* | | ***67,457*** | | ***67,281*** | | ***66,570*** | | ***66,252*** | | ***66,516*** |
| | CATIONS en mg/l | | | | | | | | | | |
| Ca++ | Calcium | 306 | 15,279 | 336,2 | 16,776 | 318,7 | 15,903 | 317,5 | 15,843 | 320 | 15,968 |
| Mg++ | Magnésium | 31 | 2,549 | 38,5 | 3,166 | 35,2 | 2,895 | 35,2 | 2,895 | 35,5 | 2,919 |
| K+ | Potassium | 31,9 | 0,816 | 29 | 0,742 | 29,6 | 0,757 | 29,9 | 0,765 | 28,4 | 0,726 |
| Na+ | Sodium | 1090 | 47,391 | 1040 | 45,217 | 1070 | 46,522 | 1050 | 45,652 | 1050 | 45,652 |
| Li+ | Lithium | 8 | 1,153 | 7,6 | 1,095 | 7,7 | 1,110 | 7,8 | 1,124 | 7,8 | 1,124 |
| Fe++ | Fer | 0,05 | 0,002 | 0,046 | 0,002 | 0,163 | 0,006 | 0,047 | 0,002 | 0,046 | 0,002 |
| Mn++ | Manganèse | 0,3 | 0,011 | 0,3 | 0,011 | 0,3 | 0,011 | 0,3 | 0,011 | 0,3 | 0,011 |
| Sr++ | Strontium | 10,1 | 0,231 | 10,3 | 0,235 | 10,3 | 0,235 | 10,3 | 0,235 | 10,4 | 0,237 |
| NH4+ | Ammonium | 1,5 | 0,034 | 1,4 | 0,032 | 1,5 | 0,034 | 1,4 | 0,032 | 1,4 | 0,032 |
| | *Total cations* | | ***67,466*** | | ***67,276*** | | ***67,472*** | | ***66,559*** | | ***66,672*** |
| | ELEMENTS TRACES en µg/l | | | | | | | | | | |
| Al | Aluminium | < 3 | | < 3 | | < 3 | | < 3 | | < 3 | |
| As | Arsenic | < 5 | | < 5 | | < 5 | | < 5 | | < 5 | |
| B | Bore | 6940 | | 6190 | | 6460 | | 6520 | | 6720 | |
| Cd | Cadmium | < 1 | | < 1 | | < 1 | | < 1 | | < 1 | |
| Cr | Chrome | < 1 | | < 1 | | < 1 | | < 1 | | < 1 | |
| Cu | Cuivre | < 5 | | < 5 | | < 5 | | < 5 | | < 5 | |
| Co | Cobalt | < 1 | | < 1 | | < 1 | | < 1 | | < 1 | |

(notamment la faible distance de transport et l'emploi de matériaux à base de PVC alimentaire, particulièrement adapté pour ce type d'eau), comme en témoignent les résultats des analyses. En particulier, la conservation des sulfures est assurée, ce qui est le signe d'une installation technique satisfaisante, malgré la présence de *Pseudomonas aeruginosa* enregistrée en juin à la buvette, qui serait plutôt signe d'une petite déficience dans l'entretien de l'installation, qui a été réglée depuis.

Quant au mélange des eaux, les caractéristiques de chaque source sont de nature à permettre un mélange selon leur débit respectif, aucune différence n'étant, par ailleurs, observée sur la chimie de l'eau par rapport aux sources analysées séparément.

### Analyses radioactinologiques

Sur le plan de la radioactivité, les conclusions du Service Central de Protection contre les Rayonnements Ionisants montrent que l'eau des forages de Mey-Est et de Mey-Ouest peut être exploitée sans restriction (Tableau III) :

« Présence de Potassium 40 toujours lié au Potassium naturel stable et de Radium 226. Traces d'Uranium. Les niveaux d'activité observés pour ces radioéléments sont toutefois sans incidence sur le plan sanitaire.

L'emploi de cette eau pour usage interne et externe peut être envisagé sans restriction.

Cette conclusion concerne strictement la radioactivité à l'exclusion des aspects bactériologiques, virologiques, physico-chimiques, etc. ».

Tableau III. — Analyse radioactinologique.

| **Sources de Saint-Gervais (74)** | **de Mey-Est émergence 10/1/94** | | **de Mey-Ouest émergence 11/1/94** | |
|---|---|---|---|---|
| **Activité volumique bêta-totale*** | 1400 | mBq/l | 1400 | mBq/l |
| **Radium 226*** | 230 | mBq/l | 200 | mBq/l |
| **Uranium naturel** | traces < 1 | µg/l | 1,3 | µg/l |
| **Thorium** | < 10 | µg/l | < 10 | µg/l |
| **Potassium** | 30 | mg/l | 26 | mg/l |
| * résultats exprimés en becquerel (Bq) | | | | |

*Bull. Acad. Natle. Méd.*, 1996, *180*, n° 2, 419-436, séance du 13 février 1996

## CONCLUSIONS

Ces demandes ont fait l'objet d'une instruction préalable par les services départementaux et ont reçu des avis favorables de la part de la DRIRE (le 12 août 1991), de la DDASS (le 14 mai 1991) et du Conseil départemental d'Hygiène (le 11 septembre 1991).

Les analyses effectuées par le Laboratoire national des études hydrologiques et thermales, sur des prélèvements à 6 mois d'intervalle, attestent de l'excellente qualité bactériologique de l'eau des forages de Mey-Est et de Mey-Ouest. Malgré une alerte sur la buvette ORL, leur constance de composition physico-chimique reste globalement comprise dans les limites de ± 5 %. Elles attestent aussi de l'analogie avec l'eau de l'ancienne source Gontard, malgré quelques petites différences qui ne devraient pas remettre en cause l'objectif de substituer l'eau de ces forages à celle de la source Gontard, dont les qualités sanitaires étaient loin d'être fiables.

Les deux sources ont des compositions physico-chimiques très voisines, ce qui justifie amplement leur mélange.

Le transport de l'eau, vers les étages de soins, n'altère pas ses qualités physico-chimiques et notamment sa sulfuration, qui demeure sans conteste un élément appréciable dans la cure de Saint-Gervais.

D'autre part, il apparaît que les conditions de captage de ces eaux et d'exploitation dans des installations neuves conçues, semble-t-il, avec soin, permettent d'envisager les cures dans des conditions de sécurité.

Le Laboratoire national des études hydrologiques et thermales propose de soumettre cette demande à l'examen de l'Académie nationale de médecine.

*Bull. Acad. Natle. Méd.*, 1996, *180*, n° 2, 437-448, séance du 20 février 1996

# La découverte de l'insuline

Henri LESTRADET *

L'histoire de la découverte de l'insuline, telle qu'on la raconte, est un peu celle d'un conte de fées. Tous les ingrédients d'une histoire merveilleuse se trouvent réunis autour de Banting et Best [1-2]. La réalité est moins éclatante et il semble important, dans une histoire aussi fondamentale que celle-ci, de rétablir la vérité car un certain nombre d'injustices doivent être réparées.

Tout remonte en fait à Minkowski [3], en 1889, montrant que l'ablation du pancréas provoque un diabète sucré. A partir de cette date, les recherches s'intensifient pour tenter d'isoler une substance active à partir des îlots de Langherans où Laguesse pensait que se trouvait le siège de la sécrétion de la substance responsable. Hedon, en 1893, montre que la greffe du pancréas corrige le trouble de la glycémie. Opie, en 1910, rassemble plus de 400 travaux sur ces essais de mise en évidence de la sécrétion interne du pancréas, que Jean de Mayer propose d'appeler insuline. Mais, en fait, un nom va dominer cette histoire avant 1914, celui de Zuelzer qui travaille à Berlin. Il est sur le point de prouver qu'un extrait pancréatique permet de tirer certains individus de leur coma diabétique [4]. Malheureusement l'extrait est mal toléré, s'accompagne de fièvre élevée et de convulsions, si bien que Minkowski – celui qui à Strasbourg quelques années auparavant avait montré l'origine pancréatique du diabète, alors professeur à Breslau et à ce moment-là le grand homme de la diabétologie – bloque toutes ces expérimentations car il pense que l'extrait utilisé par Zuelzer est dangereux. Toutefois celui-ci ne se décourage pas. Il fait des démarches, obtient des laboratoires Hoffman-Laroche quelques crédits. Malheureusement, la guerre de 1914 survient. L'hôpital où travaille Zuelzer est réquisitionné. Zuelzer mourra en 1952 aux Etats-Unis où il s'était réfugié en 1934, sans jamais avoir repris ce travail.

En France, à la même époque, Gley, Achard, Binet sont préoccupés par cette question [5]. Gardin reçoit la médaille d'Or de l'Internat pour un travail [6] qui démontre une certaine efficacité des extraits, non seulement chez le chien mais, aussi chez l'homme. Les difficultés rencontrées par ces premiers chercheurs tenaient à la nature peptidique de l'hormone et à son hydrolyse par l'action protéolytique de la trypsine qui n'était pas ou mal éliminée. Deux autres

---

* Membre de l'Académie nationale de Médecine.

*Tirés-à-part* : Professeur Henri LESTRADET, ANM - 16, rue Bonaparte - 75272 Paris cedex 06.
*Article reçu le 17 octobre 1995, accepté le 20 février 1996.*

noms, également, méritent d'être mentionnés, ceux de Scott [7] et de Kleiner [8] travaillant au Rockfeller Institute de New York, qui mettent au point des extraits efficaces. Mais, malheureusement pour eux, le grand gourou du diabète de l'époque – le docteur Allen qui ne jurait que par le régime de famine comme traitement du diabète – s'efforça par tous les moyens de décourager des recherches qui allaient à l'encontre de sa conception.

En fait la découverte, fruit d'une longue patience et d'une technique expérimentale impeccable, va venir d'un physiologiste roumain, Nicolas Paulesco. Celui-ci est né à Bucarest en 1869. Les Paulesco étaient des gens fort cultivés, très mélomanes. Nicolas Paulesco vient faire sa médecine à Paris en 1888. Il est externe des Hôpitaux en 1892, puis interne, et devient élève et ami de Lancereaux, qui publiait à cette époque des observations anatomocliniques tout à fait remarquables sur l'existence vraisemblable de deux types de diabètes complètement différents, le diabète maigre étant lié à une atrophie pancréatique [9]. Paulesco fait, en même temps que ses études de médecine, un doctorat *es* Sciences. Au moment ou il prépare sa thèse au laboratoire de la Sorbonne, le Professeur Dastre lui confie l'étude de certains problèmes obscurs de physiologie et, parmi ceux-ci, des recherches ayant pour but d'isoler le principe antidiabétique du pancréas. Pendant trois ans, Paulesco oriente ses travaux en ce sens. En 1900, Paulesco est nommé Professeur Agrégé de Physiologie à la Faculté de Bucarest. C'est là que désormais, pendant 30 ans, il va poursuivre sa carrière. Mais jamais il ne reviendra en France, bien que ses amis l'y appellent fréquemment. C'est, qu'en effet, il est atteint d'une insuffisance rénale chronique qui provoque chez lui de graves hématuries et une anémie. Entre ses crises, il continue son travail mais il est contraint d'éviter les voyages. Cet isolement lui vaudra d'être progressivement oublié. Toutefois, Paulesco se spécialise de plus en plus dans le domaine des glandes à sécrétion interne : l'hypophyse, la thyroïde, les surrénales. On doit rappeler, ici, que Paulesco était un remarquable expérimentateur et signaler que ses travaux, à l'origine des interventions sur l'hypophyse, seront poursuivis ultérieurement par Cushing.

Après de longues années de travail, Paulesco publie, en 1916, les résultats de ses premières expérimentations, tout à fait décisives sur le pancréas. Il a, en effet, injecté un extrait aqueux de pancréas préparé par lui à un chien devenu diabétique par pancréatectomie. Les symptômes du diabète ont été temporairement supprimés. La Première Guerre mondiale empêche Paulesco de faire connaître ses travaux, la Roumanie étant occupée alors par l'armée allemande, commandée par le Maréchal von Makensen, une petite fraction du territoire restant libre où combat une armée roumaine et française commandée par le Général Berthelot.

Dès 1920, paraît chez Doin le second tome du *Traité de physiologie* que Paulesco écrit avec Lancereaux. Les auteurs y insèrent les résultats des observations sur l'extrait pancréatique et les effets sur les chiens diabétiques. En 1921, Paulesco présente, sur le même sujet, 4 notes à la Société de Biologie de Paris.

La première traite de l'effet de l'extrait pancréatique chez un animal diabétique sur la glycémie, la glycosurie, la cétonurie et l'urée sanguine et urinaire. La seconde traite de l'intervalle de temps entre cette injection et le début de ses effets. La troisième explique la façon de préparer l'extrait qu'il appelle Pancréine. La quatrième indique les effets de cet extrait chez l'animal non diabétique [10].

Il rassemble ces résultats dans un article fondamental intitulé « Recherche sur le rôle du pancréas dans la stimulation nutritive », article qui est envoyé le 22 juin 1921 aux *Archives Internationales de Physiologie*, qui sont éditées simultanément à Liège et à Paris, et que tous les physiologistes du monde entier, reçoivent [11]. Ajoutons que, le 10 avril 1922, il obtient du Ministère de l'Industrie et du Commerce de Roumanie un brevet d'invention, le brevet 6254 intitulé « La pancréine et le procédé de sa fabrication ». A partir de ce moment, tout pouvait démarrer. L'extraction du produit et son utilisation chez l'homme. C'est d'ailleurs ce qui s'est passé car c'est bien à partir des travaux de Paulesco, nous allons le voir, que toute la suite va pouvoir faire son entrée dans l'histoire mais d'une très curieuse manière et par un détour surprenant, qu'il convient maintenant de raconter par le détail.

C'est ici, en effet, que se situe la saga canadienne. Frederik G. Banting, né le 14 novembre 1891 dans une petite ferme canadienne, cinquième enfant de William et Margareth Banting, est un grand gaillard, pas très brillant et faisant des études difficiles. Engagé dans l'armée canadienne, il va combattre comme médecin sur le front ; il est blessé à Cambrai. En 1920, à l'âge de 29 ans, il se prépare à devenir chirurgien orthopédiste. Sur les conseils du docteur Starr, qui habite à London — une petite ville de l'Ontario — il s'installe le 1er juillet 1920 comme chirurgien. Mais, pendant le mois de juillet, il ne voit aucun malade à l'exception, toutefois, d'un alcoolique qui vient lui demander une ordonnance pour obtenir un peu d'alcool, que l'on ne pouvait se procurer que par prescription médicale. Il gagne ce mois-là 4 dollars. Il est seul, ses parents ne peuvent l'aider. Pour s'occuper, il essaie de retaper un garage et une vieille Ford achetée de 5e main. C'est la misère.

En octobre 1920, pour survivre, il trouve un poste d'aide-anatomiste à temps partiel où il est payé 2 dollars de l'heure. Courant octobre, il doit préparer, pour les étudiants de cette petite école de Médecine de London, un exposé sur le métabolisme des sucres. Il n'a absolument aucune idée ni aucune notion sur cette question. Il est donc obligé de rafraîchir ses connaissances. Le soir du 30 octobre il lit un article d'un nommé Barron sur la lithiase pancréatique qui donnerait une atrophie du pancréas. Il a tout d'un coup son idée. Il écrit sur un petit carnet la phrase suivante : « lier les canaux excréteurs du pancréas, garder le chien vivant jusqu'à ce qu'on observe une dégénérescence des acini, laisser les îlots de Langherans intacts et essayer d'isoler la sécrétion interne permettant de traiter la glycosurie ». Il en parle à Starr le lendemain. Celui-ci, connaissant MacLeod, qui était professeur de Physiologie à Toronto, lui envoie

son protégé pour que celui-ci lui explique son idée qui est peut-être, lui semble-t'il, intéressante. Banting voit MacLeod le 2 novembre 1920. L'entrevue est assez fraîche. Mac Leod est un grand monsieur, Professeur de Physiologie très connu qui voit dans cette proposition un projet mal ficelé. Toutefois, comme cette idée était dans l'air, après réflexion MacLeod se dit qu'au fond puisque tout le monde est sur ce sujet, peut-être n'est-il pas sans intérêt de faire lui aussi un essai dans ce sens. Finalement MacLeod propose à ce jeune chômeur médical qu'est Banting un projet qu'il pense pouvoir lui faire réaliser pendant cette période de vacances où lui-même, MacLeod, doit aller passer plusieurs mois en Europe. Il lui fournit, après avoir tiré à pile ou face entre deux candidats, l'aide d'un jeune étudiant qui n'a pas encore commencé sa médecine, Charles Best, ainsi qu'un local désaffecté dans lequel il pourra faire quelques essais d'ablation du pancréas chez des chiens. Tout cela, dans l'esprit de MacLeod, préparait une expérimentation plus élaborée qu'il compte reprendre en octobre à son retour d'Europe avec l'aide de Collip, Professeur à l'Université d'Alberta, qui lui avait demandé de venir faire chez lui son année sabbatique. Tout ceci prend donc, dans l'esprit de MacLeod, une certaine cohésion.

Le local prévu va se libérer en mai 1921. Le 14 mai, on visite la salle qui est plus un débarras qu'une pièce d'expérimentation. Il va falloir nettoyer tout cela. Le 16 mai, Best passe ses derniers examens et se trouve libre le 17 mai. Il se met courageusement, avec Banting, au nettoyage du local. On balaye, on gratte les murs, on lave. On lave tellement à grande eau que cela passe dans la pièce au-dessous. Le professeur en charge de ces locaux vient immédiatement protester si bien qu'on se contentera de nettoyer et de brosser le plancher. Banting a apporté ses propres instruments de chirurgien. Les linges pour les préparations ont été empruntés et, le 18 mai, on entreprend la première pancréatectomie, en présence de MacLeod, sur une épagneule brune (n° 385). L'intervention a été planifiée en deux temps. La première étape se passe assez bien. Elle a duré 80 minutes. La deuxième, qui consistait à enlever le pancréas entièrement, présente d'énormes difficultés en ce qui concerne la ligature des vaisseaux si bien qu'un premier chien meurt immédiatement après l'intervention. Un nouveau chien, le numéro 386, subit la même intervention ; il meurt le samedi 21 mai. Quatre chiens sont ainsi opérés selon une technique que Minkowski et Paulesco réalisaient parfaitement mais que Banting ne maîtrisait pas. Il n'est donc pas surprenant que ces tentatives se soient soldées par quatre morts successives. Saignements, infections se multiplient. Il n'y a plus de chiens. Il faut alors en chercher clandestinement dans les rues de Toronto. Pendant deux mois, les essais se poursuivent sans ordre particulier, sans protocole, sans notes bien tenues avec un nombre considérable de chiens sacrifiés. Toutefois, peu à peu, la technique s'améliore tant et si bien que certains chiens survivent quelques jours et qu'au moins l'un d'entre eux est encore en vie au moment où une lettre de MacLeod arrive, le 30 août 1921. MacLeod est à ce moment-là en Ecosse. Il vient de voyager en Europe pendant l'été et, bien entendu, il est

au courant des publications en particulier de celle de Paulesco, puisque d'ailleurs celle-ci va être citée dans le premier papier qui sera publié plusieurs mois plus tard. Il demande à Banting de modifier son protocole opératoire.

A partir de ce moment, pour la première fois, un chien survit suffisamment longtemps. Un extrait est injecté, la glycémie baisse légèrement. Malheureusement le chien meurt presque immédiatement en hyperthermie. Un deuxième essai permet d'enregistrer une chute légère de la glycémie mais le chien meurt le lendemain. Un troisième essai est un peu plus satisfaisant. Le 21 septembre 1921, Mac-Leod revient d'Ecosse. Il reprend les choses en main, discute des techniques. Si bien que quelques expérimentations mieux conduites permettent, malgré les chocs importants et les hyperthermies, d'avoir un certain nombre de résultats positifs, résultats qui semblent suffisants pour être présentés à un petit groupe de médecins à Toronto. Après quelques disputes entre Banting, qui avait très mauvais caractère, et MacLeod, la présentation a lieu le 10 novembre à la suite de laquelle, après une discussion, on décide de mieux cerner le problème, d'essayer de maintenir en vie un chien plus longtemps et surtout de s'adjoindre l'aide de Collip, qui vient d'arriver à Toronto pour son année sabbatique.

On a affaire, avec Collip, à un homme de métier qui sait travailler et qui prépare des extraits pancréatiques actifs à tout coup. La collaboration de Banting et de Collip ne va pas être facile. D'un côté un homme brouillon, désireux de pousser son idée mais sachant mal travailler et, de l'autre, un bon technicien, Collip, qui saisit l'intérêt de ce travail en dépit d'un début peu prometteur. MacLeod a compris lui aussi qu'on était là sur un sujet très intéressant depuis qu'il a lu l'article de Paulesco. Il s'agit maintenant d'essayer de faire très rapidement des essais chez l'homme. Une communication préalable est envisagée pour le 30 décembre 1921, un vendredi après-midi, à New Haven où a lieu une réunion de physiologistes.

MacLeod demande à Banting de présenter ce projet. Banting, malheureusement, a beaucoup de difficultés à s'exprimer si bien que MacLeod reprend les différents éléments, répond aux questions et aux critiques, ce qui lui a valu de la part de Banting des reproches amers car Banting s'est persuadé, à ce moment-là, que MacLeod voulait prendre pour lui la paternité d'un travail qu'il estime exclusivement le sien. Or, à New Haven, le docteur Clows, qui travaille chez Lilly, est intéressé par cette communication et propose son aide pour l'extraction du produit qui semble, en effet, se montrer de plus en plus efficace.

En janvier 1922, les essais se poursuivent chez le chien avec l'extrait préparé par Collip. On observe même des hypoglycémies. Banting, de plus en plus excité, pousse MacLeod et Collip à faire des essais chez l'homme. On trouve un volontaire en la personne du jeune Léonard Thomson, âgé de 14 ans. Mais là, un curieux épisode intervient. Banting se fâche avec Collip. Banting veut absolument préparer lui-même son extrait avec Best et l'injecter à ce jeune

garçon qui est en train de mourir d'un coma diabétique. L'injection a lieu dans l'après-midi du 11 janvier 1922. Elle est effectuée par Jeffrey, qui était résident en charge de la salle ; 15 ml de l'extrait sont injectés, 7,5 ml dans chaque fesse. Les résultats avant et le lendemain de l'injection sont les suivants : la glycémie passe de 4,4 g/l à 3,4 g/l, mais la glycosurie qui est de 330 g/24 heures (91 g/l dans 3,6 litres) avant, est de 340 g/24 heures (84 g/l dans 4,06 litres) le lendemain. La cétonurie n'est pas modifiée. Aucun bénéfice clinique n'est constaté. La seule chose que l'on note est un abcès, dû aux impuretés de l'extrait qui se développe au site de l'une des deux injections. Il est donc évident, que cette première injection n'a apporté aucune amélioration. Devant cet échec, il n'est donc pas question de poursuivre cet essai avec l'extrait de Banting. Pendant ce temps Collip a préparé de son côté un autre extrait pancréatique [12] qui va être injecté deux jours plus tard et pendant les 11 jours suivants, au cours desquels la glycosurie va être pratiquement réduite à 0. Il est donc évident que l'extrait de Banting, mal purifié, a été inefficace mais que l'extrait de Collip a été tout à fait satisfaisant. On peut noter, à ce propos, l'imprécision de l'esprit de Banting, se contentant de relier ses descriptions à des souvenirs et non à des faits. C'est ainsi que, dans le discours de réception pour le Prix Nobel, Banting dit textuellement « que dès l'injection de son extrait, la glycémie baisse et que le sucre disparaît des urines ». C'est ainsi que l'on raconte l'histoire.

A partir de ce moment en tout cas, les événements vont s'accélérer. Dans le *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, paraît un article signé de Banting et Best le 22 février 1922 [13], article aux conclusions imprécises dans lequel on retrouve 18 erreurs grossières entre les tableaux et le texte et qui, indiscutablement, ne passerait pas actuellement la barrière d'un Comité de lecture. Ce qui est très intéressant en tout cas dans ce papier, c'est que Banting et Best citent Paulesco en bibliographie mais en lui faisant dire l'inverse de tout ce qu'il a publié. Quoi qu'il en soit, grâce à l'efficacité de l'extrait préparé par Collip, non seulement Léonard Thomson mais ensuite Elisabeth Hughes, fille d'un notable américain, puis Jim Havens pour ne citer que les plus célèbres des sujets traités, voient leur état s'améliorer de façon spectaculaire.

La communauté scientifique s'intéresse à cette question. Le laboratoire Lilly apporte sa capacité technique. La publicité est faite, dans les journaux en particulier (à titre anecdotique sous la plume d'Hemingway). Puis après une petite période d'insécurité, au mois de mars 1922, pendant laquelle Collip a rencontré certains difficultés à préparer son extrait, mais difficultés rapidement surmontées, tout va aller très vite. Si bien que, le 3 mai à Washington, MacLeod va pouvoir présenter un travail bien structuré qui a recueilli, fait rare dans les annales de la physiologie, une ovation enthousiaste et des applaudissements de la salle debout. Notons, pour la petite histoire, qu'à ce congrès de Washington, Banting entraînant Best dans son attitude d'opposition, avait refusé de venir, fâché contre MacLeod, estimant que celui-ci lui volait son travail. Puis c'est l'extension rapide des premières insulines, l'Isletine de Lilly qui connaît un

succès croissant. Des dizaines de milliers de diabétiques aux Etats-Unis, au Canada, puis bientôt à travers le monde vont être soignés. Les malades ne mourront plus alors de coma diabétique. C'est le début de l'ère moderne de l'insulinothérapie, ouvrant à ce moment le champ à toutes les études ultérieures sur le diabète, qui aboutissent en 1958 à la connaissance de la formule de l'insuline, grâce à Sanger, et en 1960 aux dosages radio-immunologiques par Berson et Yalow.

Mais l'histoire n'est pas terminée en ce qui concerne cette découverte. Alors qu'indiscutablement Paulesco avait publié un travail démonstratif irréprochable sur le plan expérimental, que Collip de son côté avait réussi à préparer un extrait constamment efficace, il est surprenant de voir, en 1923, dans la foulée du premier enthousiasme, le prix Nobel de Médecine qui aurait dû en toute logique être attribué à Minkowski, à Paulesco et éventuellement à Collip, être finalement donné à Banting et à MacLeod. On sait que cette décision a fait l'objet de violentes polémiques au Canada et dans le monde. On sait que Banting, d'emblée, a fait grise mine lorsqu'on lui a annoncé la nouvelle car il ne pouvait plus voir MacLeod et qu'il a ostensiblement partagé son prix avec Best. MacLeod, de son côté, a accepté cet honneur sans la moindre réticence alors qu'il connaissait parfaitement le travail de Paulesco. MacLeod a été, en tout cas, le coordinateur de cet ensemble d'événements qui a abouti à l'utilisation, chez l'homme, d'un extrait efficace. MacLeod a, par ailleurs, partagé son prix avec Collip, rendant à ce dernier l'hommage qu'il méritait. Par contre, en ce qui concerne Paulesco, une conjuration du silence s'est établie et, malgré les protestations de ce dernier, ni Banting ni Best ni MacLeod n'ont jamais voulu reconnaître ouvertement la priorité indiscutable de sa découverte. Cette conjuration du silence s'est prolongée pendant des années, malgré les protestations renouvelées de nombreux médecins, en particulier celles d'Eric Martin, de Genève, et de tous les efforts que le Professeur Pavel, de Bucarest, fera dans les années 72 au moment du cinquantenaire de la découverte de l'insuline pour réhabiliter le travail de son compatriote [14].

Il est bien certain que, lorsqu'une découverte médicale est dans l'air, il est fréquent de voir celle-ci aboutir en même temps sous des cieux différents et par des savants qui ne se connaissent pas. Mais ici, il est certain que le travail de Paulesco, travail d'une qualité tout à fait remarquable, a été connu par les auteurs canadiens. Le grand reproche qu'on peut leur faire est de ne pas avoir fait mention, ou plus exactement, d'avoir déformé la pensée de Paulesco. On ne peut que regretter, en particulier, que Best qui était un homme courtois, n'ait pas su au moment du cinquantenaire de l'insuline, alors qu'on le lui demandait, reconnaître au moins les mérites de celui qui avait ouvert la voie.

*Bull. Acad. Natle. Méd.*, 1996, *180*, n° 2, 437-448, séance du 20 février 1996

RÉSUMÉ

Quand un problème médical est étudié intensément par plusieurs équipes dans le monde, il est relativement fréquent que la solution soit trouvée simultanément dans plusieurs pays. Toutefois, ceci n'est pas exactement ce qui s'est passé pour la découverte de l'insuline.

Depuis soixante-quinze ans, les passions sont retombées. Il apparaît donc nécessaire aujourd'hui de reconstituer la chronologie des faits afin de situer Paulesco et Collip à leur juste place, bien avant ceux à qui un curieux concours de circonstances a attribué la priorité de cette découverte fondamentale.

MOTS-CLÉS : HISTOIRE MÉDECINE 20 SIÈCLE. INSULINE. PERSONNES CÉLÈBRES. RECHERCHE.

SUMMARY : *The discovery of insuline*

When a medical problem is intensively studied by many teams in the world, it is frequent to see the solution found simultaneously in different countries. However that was not exactly the case concerning the extraction of a potent insulin able to cure Diabetes Mellitus. It seems necessary, seventy five years later, when passions are quenched, to reconsider the chronology of the history and put Paolesco but also Collip at the right places much before Banting and Best to whom, by a curious misinterpretation of facts, was attributed the priority of this fondamental discovery.

KEY-WORDS (Index Medicus) : HISTORY OF MEDICINE, 20TH CENT. INSULIN. FAMOUS PERSONS. RESEARCH.

## BIBLIOGRAPHIE

[1] CHEYMOL J. — A propos de la découverte de l'insuline par Banting et Best. *Bull. Acad. Natle Med.*, 1971, *155*, 836-852.

[2] BLISS M. — The discovery of insuline. 1982, University Chicagon Press, vol. 304 p.

[3] MERING (Von) J. et MINKOWSKI O. — Diabetes mellitus nach Pankreas extirpation. *Arch. Exp. Path. Pharmak.*, 1889, *26*, 31-387.

[4] ZUELZER G.L. — Ueber Versuche einer specifischen Fermentherapie des Diabetes. Zeitschrift für Experimentalle. *Pathologie und Therapie*, 1908, *5*, 307-318.

[5] GLEY E. — A propos du diabète pancréatique. *C.R. Soc. Biol.* 1906, *61*, 715-717.

[6] GARDIN C.R. — Contribution à la recherche d'une sécrétion interne du pancréas qui serait

régulateur de la combustion du sucre et aurait une action antidiabétique. Paris : Thèse, Paris, 1923, n° 42.

[7] Scott E.L. — On the influence of intraveinous administration of an extract of the pancreas on experimental pancreatic diabetes. *Amer. J. Physiol.* 1912, *29*, 306.

[8] Kleiner S.S. — The action of intraveinous injections of pancreas emulsions in experimental diabetes. *J. Biol. Chem.*, 1919, *40*, 153.

[9] Lancereaux E. — Le diabète maigre : les symptômes, son évolution, son pronostic, son traitement, ses rapports avec les altérations du pancréas. — Etudes comparatives du diabète maigre et du diabète gras. Coup d'œil rétrospectif sur les diabètes. Union Médicale n° 15 : 161 (*167*, n° 16, 205-211 ; 31 janvier et 7 février 1880).

[10] Paulesco N.C. — Action de l'extrait pancréatique injecté dans le sang chez un animal diabétique (21 avril 1921). — Action de l'extrait pancréatique dans le sang d'un animal normal (19 mai 1921). — Influence de la quantité de pancréas employée pour préparer l'extrait injecté dans le sang diabétique (9 juin 1921). Communications faites à la branche de Bucarest de la Société de Biologie, parues dans les *Comptes-rendus de la Société de Biologie*, séance du 23 juillet 1921, 1921, *85*, n° 27, 555-558.

[11] Paulesco N.C. — Recherche sur le rôle du pancréas dans l'assimilation nutritive. *Archives Internationales de Physiologie*, 1921, *17*, 85-103.

[12] Collip J.B. — The original method as used for the isolation of insulin in semipur form for the treament of the first clinical case. *Proc. of Amer. Soc. of biol. chem.*, 1923, *55*, 11-12.

[13] Banting F.G., Best C.H. — The internal secretion of pancreas. *J. Lab. Cli. Med.*, 1922, *7*, 251-266.

[14] Pavel I. — The priority of NC Paulesco in the discovery of insulin, 1976. Edit. Academic Republ. Soc Roumania, Bucarest. vol. 251 p.

## DISCUSSION

M. Maurice Guéniot : Je félicite l'auteur de la communication d'avoir rappelé Kleiner, qui est trop souvent oublié et qui avait réussi, entre 1915 et 1919, à préparer un extrait pancréatique actif mais qui donnait des réactions telles, qu'il a dû abandonner ses travaux en soulignant qu'on ne pourrait utiliser ce genre d'extrait que s'il pouvait être purifié par un biochimiste. Il lui a manqué un Collip. Pouvez-vous nous rappeler ce que sont devenus, par la suite, les protagonistes de cette affaire ?

M. Paul Guinet : Pour la longue marche qui a trouvé son terme dans la découverte de l'insuline, il convient de rappeler le nom de Raphaël Lépine. Cinq mois après la publication de Von Mehring et Minkowski, en 1889, il en apporte sa confirmation sur deux chiens. Il publie ensuite un article que l'on peut considérer comme l'acte de naissance du diabète, comme une insuffisance de sécrétion pancréatique par absence d'un « ferment » permettant l'abaissement du « glycose » dans le sang et sa formation dans le foie. Il devait échouer dans ses recherches pour obtenir un extrait actif, à partir de macérations pancréa-

tiques en milieu alcalin. Si j'ai voulu évoquer la mémoire de Raphaël Lépine, c'est en raison de sa double appartenance, lyonnaise et parisienne. Ancien interne de Lyon, puis de Paris, élève de Brown-Séquard, reçu au Bureau Central puis à l'agrégation, il devait occuper, à Lyon, la chaire de clinique médicale à l'Hôtel-Dieu. J'ajoute que lui-même, son fils le doyen Jean Lépine, et son petit-fils le Professeur Pierre Lépine, furent membres de notre Académie.

M. Louis HOLLENDER : Puisque vous avez évoqué les travaux de Minkowski, j'aimerais rappeler comment s'est établie la première filiation pancréas-diabète. Cela se passait à Strasbourg, en 1889. Oscar Minkowski, d'origine russe, assistant du Professeur Naunyn, directeur de la Clinique médicale universitaire, s'intéressait avec Joseph Mehring, pharmacologue, assistant du Professeur Schmiedeberg, au rôle du suc pancréatique dans la digestion des graisses. Après avoir réalisé sans succès des ligatures du Wirsung, ils décident de pratiquer une pancréatectomie totale. Comme Claude Bernard avait proclamé qu'enlever le pancréas était mortel, le garçon de laboratoire Joseph Zinck reste toute la nuit auprès du chien pour le surveiller. Le lendemain, il signale à Minkowski, surpris de retrouver l'animal vivant, que ce dernier avait énormément bu et uriné, que ses urines étaient poisseuses et qu'elles attiraient les mouches... Et Joseph Zinck, dont les mérites sont loin d'être négligeables, d'ajouter « en enlevant tout le pancréas, vous avez donné au chien le diabète » : En fait, les urines de l'animal renfermaient 12 g de sucre pour cent ! Un an plus tard, en 1890, Louis Hédon, Professeur de physiologie à Montpellier, devait entreprendre la même expérimentation et arriver aux mêmes constatations.

M. Jacques POLONOVSKI : Jean Roche est entré, comme étudiant, dans le laboratoire du Professeur Hédon l'année où Best entrait dans le laboratoire de Banting. Hédon travaillait aussi, dans le laboratoire de Physiologie de la Faculté de Médecine de Montpellier, sur l'isolement du facteur pancréatique hypoglycémiant. Malheureusement, ils ne parvinrent pas à purifier l'insuline, car elle subissait une destruction protéolytique par les protéases pancréatiques. La chance qu'a eu Best, c'est l'idée qu'a eu Collip d'inhiber les protéases par la chaleur, avant de procéder à l'extraction de l'hormone de l'extrait.

M. Michel ARTHUIS : Je voudrais simplement mentionner que, dans l'*Histoire de la Médecine, de la Pharmacie, de l'Art Dentaire et de l'Art Vétérinaire* (Edit. Albin Michel, 8 tomes), il est dit, dans le Tome 7, page 372, au chapitre consacré à l'Histoire de l'Endocrinologie rédigé par notre confrère Jean Vague, que Paulesco figure en bonne place, ainsi que ses publications. Il parlait alors de pancréine.

M. LESTRADET : — à M. Guéniot : Voici, brièvement, ce que sont devenus les protagonistes de cette affaire. Nicolas Paulesco est mort, à 62 ans, à Bucarest en 1931, ignoré et amer. Banting, après le prix Nobel, reçu des honneurs multiples. On lui donne à Toronto une chaire de physiologie spécialisée où il a

effectué quelques études sur le cancer. Sa vie personnelle a été un désastre. Il s'est mis à boire de plus en plus. La fin de sa vie a été heureusement de meilleure qualité. Au moment de la guerre de 1940, il s'est engagé dans l'armée canadienne. Il est mort à 50 ans dans un accident d'avion au-dessus de Terre-Neuve, le 17 mars 1941. MacLeod, né en 1876, a été, après le Prix Nobel, en butte à une hostilité terrible de Banting. Celui-ci s'est acharné à discréditer MacLeod qui avait, en fait, beaucoup aidé à faire aboutir un projet qui, au départ, était mal engagé. Il est certain que les conseils de MacLeod ont été efficaces. MacLeod était un homme courtois, un peu timide et qui a beaucoup souffert de l'attitude excessive de Banting. A tel point qu'en 1928, il a quitté Toronto et est revenu en Ecosse, à Aberdeen, où il est mort en 1935, à l'âge de 66 ans. Charles Best, né en 1901, était, grâce au sort (puisqu'on a tiré à pile ou face entre lui et un autre étudiant : Clarke Noble), entré dans cette aventure où il a fait un travail honnête. Il a, en tout cas, bénéficié à partir de ce moment d'une promotion absolument extraordinaire puisque, quelques années après la fin de ses études de médecine, il s'est trouvé promu, à 29 ans, Professeur de Physiologie à la place de MacLeod. Il a effectué quelques travaux intéressants, en particulier sur l'héparine, mais rien de notable sur le diabète. Au moment où approchait le cinquantenaire de la découverte de l'insuline, le Professeur Pavel, avec l'appui non seulement du Professeur Eric Martin de Genève, mais de nombreux autres professeurs à travers le monde (Young, Murray, Funck, Sordelli, Arthus, Sharpey-Schäffer, Trendelenburg, Bajaj, etc.), a essayé de réhabiliter le travail de Paulesco. Il est intéressant, sous cet angle, de reproduire ici la réponse embarrassée de Charles Best à une lettre de Pavel. Cette lettre, émanant de l'Université de Toronto, écrite le 15 octobre 1969, est la suivante (traduction).

*Cher Docteur* PAVEL,

*En réponse à votre lettre du 8 octobre, je suis content d'apprendre que vous avez l'intention de fêter l'anniversaire du cinquantenaire des publications du Professeur Paulesco. Je regrette beaucoup qu'il y ait eu une erreur dans notre traduction de l'article du Professeur Paulesco. Après tant d'années, je ne puis m'expliquer exactement ce qui est arrivé. Comme 50 ans sont passés depuis, je ne me rappelle pas si la faute en est à notre pauvre connaissance de la langue française ou bien si nous avons eu une traduction erronée. En tout cas, je tiens à préciser combien je regrette cette malheureuse faute et je dois dire que je souhaite que vos efforts pour honorer le Professeur Paulesco soient couronnés d'un grand succès. Avec mes meilleurs vœux.*

*Sincèrement vôtre.*

*Charles Best*

Cette lettre amorçait un début de reconnaissance. Or, malheureusement, entre cette date et sa mort en 1978, celui-ci n'a jamais fait référence à cette correspondance ni au travail original. Charles Best est mort, couvert d'honneurs, à 77 ans. Quant à Collip, né en 1893, après cette contribution essentielle à la préparation d'une insuline efficace, il a essayé d'isoler une substance végétale hypoglycémiante qu'il a appelée Bucokinine, mais qui a été sans lendemain. Il a travaillé, en 1927, à la Mayo Clinic, puis à McGill University à Montréal ; en 1947, il a été nommé doyen de l'University of Western Ontario. Il est mort en 1965. Dans ses dernières années, Collip, qui a toujours été très réticent pour parler ou écrire sur la découverte de l'insuline, disait que la vérité finirait par se savoir dans les milieux scientifiques et apparaîtrait, enfin, quand tout le monde serait mort.

— à M. Guinet : Je vous remercie d'apporter ces précisions sur la contribution de Raphaël Lépine. Il y a de nombreux noms qu'il aurait fallu citer ici, mais j'ai dû me limiter à quelques-uns dans cet exposé où je tenais, essentiellement, à mettre l'accent sur le rôle majeur de Paulesco et de Collip.

— à M. Hollender : Rien n'aurait pu se faire, en effet, sans la démonstration que l'extirpation du pancréas provoquait un diabète maigre. La précision que vous apportez sur l'esprit d'observation de Joseph Zinck est particulièrement intéressante.

— à M. Polonovski : La part de Collip, en effet, a été essentielle dans le développement de l'insulinothérapie.

— à M. Arthuis : Beaucoup de diabétiques de langue française, et tout spécialement Jean Vague, ont en effet essayé, au moment du cinquantenaire de la découverte de l'insuline, de mettre Paulesco à sa vraie place. Une séance spéciale de la Société de Pédiatrie, le 13 octobre 1971, consacrée au diabète de l'enfant, avait, de son côté, tenté de rétablir la vérité (*Arch. Fr. Pédiatrie*, 1972, *29*, n° 9).

*Bull. Acad. Natle. Méd.*, 1996, *180*, n° 2, 449-462, séance du 20 février 1996

# Données cliniques, morphologiques et immunophénotypiques à partir de 10 observations de lymphome T cutanéo-muqueux épidermotrope du chien (analogue au *Mycosis Fongoïde*). Intérêt d'un modèle animal de pathologie spontanée

Jean-Pierre MAGNOL*, Imène GHERNATI*, Thierry MARCHAL*, Luc CHABANNE**, Agnès DELVERDIER***, Corinne FOURNEL**.

## 1. Introduction

Il est maintenant bien établi que la peau est un organe immunocompétent où des interactions complexes entre lymphocytes et cellules présentatrices d'antigène participent à l'immuno-surveillance. Si les lymphomes malins non hodgkiniens (LMNH) primitifs de cet organe sont connus dans l'espèce humaine depuis la description princeps, en 1806, d'un cas de *Mycosis fongoïde* (MF) par J.L. Alibert, il a fallu attendre la publication de Kelly [1] et la nôtre, en Europe continentale [2], pour reconnaître chez le chien âgé une entité ressemblant au MF de l'homme. Les analogies avec l'affection humaine sont, en effet, nombreuses et troublantes, cliniques (lésions érythémato-squameuses, plaques, nodules), évolutives (infiltrations ganglionnaire et sanguine occasionnelles de type syndrome de Sézary), cytologiques (cellules de Sézary-Lutzner ou du mycosis observées dans les stades de début), histologiques (micro-abcès de Pautrier signant l'épidermotropisme) et immunohistochimiques (prolifération T lymphocytaire $CD3^+$). Par ailleurs, depuis 1981, plusieurs cas [3, 4] de Réticulose Pagétoïde (RP) ont été décrits chez le chien. De siège oro-facial et jonctionnel muco-cutané, la RP canine évoque, par ses larges pertes de substance, une maladie auto-immune de type Pemphigus vulgaire ou Pemphigoïde bulleuse et diffère, par son caractère multicentrique ou systémique et son évolution fatale, de l'entité reconnue chez l'homme.

Aujourd'hui, plusieurs dizaines de cas analogues au MF ou à la RP ont été décrits dans l'espèce canine et les principales caractéristiques du modèle

* Ecole Vétérinaire de Lyon. Unités de Dermatologie et Cancérologie, 1 Avenue Bourgelat — BP 83 — 69280 Marcy l'Etoile. Télécopie : 78.87.25.42.
** Ecole Vétérinaire de Lyon. Laboratoire de Cytologie et Immunopathologie.
*** LAPVSO, 85, allée de Brienne, BP1 — 31901 Toulouse cedex.

*Tirés-à-part* : Professeur Jean-Pierre Magnol, à l'adresse ci-dessus.
*Article reçu le 22 juin 1995. Accepté le 9 octobre 1995.*

semblaient bien établies. Cependant, les travaux récents et contradictoires de Fivenson et de Moore sur l'immunophénotype des lymphocytes tumoraux, soit $CD4^+$, comme dans l'espèce humaine [5], soit $CD8^+$ [6] posent la question des limites de ce modèle animal. Ces auteurs ayant utilisé une méthodologie identique, nous avons émis l'hypothèse qu'il existait, pour les lymphocytes T tumoraux CD4 et CD8, une cinétique différente de ces populations cellulaires en fonction du temps. Dans ce contexte, il nous a paru opportun d'établir, à partir d'une série personnelle, l'immunophénotype de cette tumeur, pour chaque stade clinique, estimant que si le parallélisme avec le modèle humain (MF) risquait d'être ébranlé dans l'hypothèse d'une confirmation de la nature $CD8^+$ des cellules tumorales, nous mettrions néanmoins l'accent sur une nouvelle particularité anatomique et fonctionnelle du système immunitaire cutané du chien, qui ne pourrait par la suite qu'aider aux investigations ultérieures et aux études comparatives.

## 2. Matériel

### 2.1. Animaux

Cette étude est réalisée sur 10 chiens atteints de MF sans distinction de race, d'âge et de sexe, recrutés au cours de l'année 94-95 à l'Ecole Vétérinaire de Lyon ou auprès de vétérinaires praticiens (Tableau 1). Le nombre relativement modeste des cas collectés s'explique par la faible incidence de cette affection et l'obligation de se déplacer pour disposer d'un matériel frais, à congeler sur place.

### 2.2. Prélèvements

Il s'agit soit de pièces d'éxérèse (nodules), soit de biopsies concernant des lésions des muqueuses. Une moitié du prélèvement est placée dans du formol tamponné à 10 % pour l'histologie classique. Les lames obtenues ont été colorées à l'hématoxyline-éosine et au Giemsa. L'autre moitié du prélèvement est plongée dans un bain d'isopentane refroidi par de l'azote liquide, puis placée dans un cryotube et stockée à -80°C. Les blocs sortis du congélateur sont placés dans le cryostat (-22°C). Les coupes, d'une épaisseur de 6 µm, sont récoltées à l'aide de lames préalablement traitées dans un bain de Silane.

### 2.3. Anticorps primaires (ils figurent dans le Tableau 2)

Nous avons utilisé un Ac polyclonal (AcPo) anti-CD3 comme marqueur pan T [7] et plusieurs Ac monoclonaux (AcMo) spécifiques du chien [8] : un anti-CD45 (pan leucocytes), un anti-CD5 (lymphocytes T et une fraction des lymphocytes B), un anti-CD4, un antiCD8 et un anti-CMH-classe II (DQ)

*Bull. Acad. Natle. Méd.*, 1996, *180*, n° 2, 449-462, séance du 20 février 1996

TABLEAU 1. — Données cliniques concernant les 10 cas de MF.

| Cas n° | Race | Sexe | Age | Localisation des lésions cutanées | Stades cliniques | Infiltration ganglionnaire | Infiltration sanguine | Durée d'évolution après diagnostic |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1<br>62-94 (EVL) | Croisé Porcelaine-Beagle | mâle | 14 ans | Plaque labiale, ulcères à la jonction ano-rectale | Plaque, ulcères | oui | oui | 3 mois (euthanasie) |
| 2<br>M.1378-94 (LAPVSO) | Setter Anglais | mâle | 11 ans | Nodules sur le scrotum et la lèvre inférieure | Nodules, plaques | non | non | 11 mois (en vie) |
| 3<br>M.726-94 (LAPVSO) | Dalmatien | femelle | 13 ans | Lèvre inférieure érythémateuse | Erythème | non | non | 6 mois |
| 4<br>M.71-94 (LAPVSO) | Boxer | femelle | 12 ans | Néoformation gingivale ulcérée et hémorragique | Nodules | oui | non | 13 mois (en vie) |
| 5<br>M.1538 (LAPVSO) | Boxer | femelle | 13 ans | Lèvre inférieure : plaque surélevée | Erythème | non | non | 8 mois (en vie) |
| 6<br>820-95 (EVL) | Boxer | femelle | 13 ans | Lèvre inférieure : plaque érythémateuse surélevée | Nodules | oui | non | 2 mois (euthanasie) |
| 7<br>2498-94 (LAPVSO) | Boxer | mâle | 13 ans | Lèvre érythémateuse | Erythème | non | non | 5 mois (en vie) |
| 8<br>865-95 (LAPVSO) | Boxer | mâle | 11 ans | Néoformation lèvre supérieure droite | Nodules | non | non | 2 mois (en vie) |
| 9<br>1171-95 (LAPVSO) | Croisé Fox-Terrier | femelle | 11 ans | Néoformation lèvre supérieure droite érythémateuse | Nodules | non | non | 1 mois (en vie) |
| 10<br>M.537-95 (LAPVSO) | Boxer | femelle | 13 ans | Néoformation lèvre inférieure gauche | Plaques | non | non | 3 mois (en vie) |

LAPVSO : Laboratoire d'Anatomie Pathologique Vétérinaire du Sud-Ouest. Dr Agnès Delverdier.
EVL : Ecole Vétérinaire de Lyon.

marquant, chez le chien, une molécule exprimée sur l'ensemble des cellules présentatrices d'antigène et des lymphocytes T et B, au repos ou activés. Enfin l'AcMo MIB1 anti-Ag nucléaire de prolifération Ki-67 a été ajouté à ce panel, en raison d'une réactivité croisée démontrée entre l'homme et le chien [9, 10].

## 3. MÉTHODES

3.1. Le diagnostic de MF repose sur la concordance entre les données épidémiologiques, cliniques, évolutives, cytologiques, histologiques (épithéliotropisme) et immunophénotypiques (cellules tumorales exprimant le CD3). Les cas considérés comme douteux, lorsque l'un des paramètres précédents est discordant, ont été écartés de cette étude.

### 3.2. Les immunomarquages ont été réalisés à l'aide d'une technique standard : Avidine-Biotine-Peroxydase

L'ensemble des réactifs utilisés sur coupes en congélation ou de tissus fixés, à l'exception des Ac primaires, provient du kit autoprobe II distribué par Bioméda. Sur coupes en congélation, chaque Ac primaire est incubé pendant une heure à température ambiante et à la dilution appropriée (Tableau 2). Les détails de la méthode suivie ont été publiés par ailleurs [10, 11].

TABLEAU 2. — Ac primaires utilisés sur coupes en paraffine et en congélation

| | Spécificités | Clone | Isotype Espèces productrices | Source | Dilution |
|---|---|---|---|---|---|
| Paraffine | CD3 | polyclonal | Lp anti-homme | DAKO | 1/50 |
| | Ki 67 | MIB-1 | IgG1 souris | Immunotech | 1/50 |
| Congélation | ca CD5 | YKIX 322.32 | Ig G2a rat | Cobbold, Cambridge (G.B) | 1/50 |
| | ca CD4 | YKI X 302 9.3.7 | Ig G2a rat | Cobbold, Cambridge (G.B) | 1/50 |
| | ca CD8 | Y.CATE 55 9.1 | IgG2 rat | Cobbold, Cambridge (G.B) | 1/100 |
| | ca CD45 | YKI X 716 13 2 | Ig G2b rat | Cobbold, Cambridge (G.B) | 1/100 |
| | HLA-DQ/IOT2d | SPVL3 | Ig G2 souris | Immunotech | 1/50 |

Sur coupes de tissus fixés par l'eau formolée à 10 % et inclus en paraffine, les anticorps primaires utilisés figurent dans le tableau n° 2. Des coupes de 6 µ sont réalisées à l'aide d'un microtome et placées sur des lames préalablement silanées. Suivent les opérations de déparaffinage, de blocage des peroxydases endogènes et de réhydratation des coupes [10, 11]. Lors d'utilisation de l'AcMo MIB-1 anti Ki-67 et de l'anti-CD3, les coupes subissent un prétraitement destiné à découvrir les épitopes masqués lors de la fixation, prétraitement qui a consisté en une immersion pendant 10 min à 37° dans un mélange d'enzymes protéolytiques (Réactif Autozyme de Bioméda) puis, après rinçage dans un tampon de PBS froid, en 4 passages de 5 mn dans un four à micro-ondes (puissance maximale), les lames étant préalablement placées dans un bain de tampon Citrate. Après ce prétraitement, la technique d'immunomarquage employée est similaire à celle utilisée pour les coupes en congélation.

### 3.3. Dénombrement des cellules marquées par les anticorps primaires

Les cellules marquées sont comptées sur microphotographies réalisées à l'objectif 10. Les zones intéressantes ne présentant ni pli ni déchirure sont photographiées. Les pourcentages du tableau 3 correspondent au nombre de cellules marquées par rapport au nombre de lymphocytes identifiables (pour un nombre total de 1 000).

## 4. Résultats

L'ensemble des résultats est présenté sous la forme de Tableaux (3a et 3b).

Pour les dix cas recrutés les lésions siègent (exclusivement ou préférentiellement) sur la muqueuse buccale, surtout labiale, en particulier à la jonction muco-cutanée. Tous les stades (érythème, plaques, nodules, formes mixtes) sont représentés, bien qu'inégalement.

Histologiquement, l'épithéliotropisme se manifeste, soit sous forme d'un flux massif de cellules isolées, soit sous forme d'amas cellulaires à l'intérieur de logettes creusées dans le massif malpighien, les classiques micro-abcès de Pautrier (Fig. 1). Cet épithéliotropisme est, dans notre série, d'intensité variable en fonction du stade clinique, important aux stades érythème/plaques, de très faible à modéré au stade tumoral (nodules). Il intéresse pour le cas n° 1, porteur de lésions anales, les glandes hépatoïdes (circumanales) (Fig. 2). L'infiltration des annexes étant souvent massive chez le chien, le terme d'épithéliotropisme semble plus approprié que celui d'épidermotropisme. L'aspect cytologique varie considérablement des stades de début (cellules de petite taille, aux noyaux hyperchromatiques et convolutés) aux stades terminaux (grandes cellules d'aspect franchement « histiocytaire »). Dans la présentation de l'immunophénotype des cellules tumorales, le contingent tumoral intra-muqueux a été dissocié de celui infiltrant le chorion.

Toutes les cellules de morphologie lymphocytaire sont, sans exception, $CD3^+$ (Fig. 3), $CD45^+$, indépendamment de leur situation, au sein de l'épithélium ou du chorion. Les cellules $CD3^+$ de l'épithélium sont systématiquement $CD8^+$ (Fig. 4), toujours $CD4^-$, expriment le CD5 de façon variable et majoritairement l'Ag nucléaire de prolifération Ki-67 (52 % pour le cas n° 3). Les cellules $CD3^+$ du chorion sont exclusivement (cas n$^{os}$ 1 et 9) ou majoritairement $CD8^+$ (60 à 95 %), occasionnellement $CD4^+$ (de 5 à 40 %). Elles expriment le CD5 de façon variable et minoritairement l'Ag Ki-67.

## 5. Discussion

Il est tout à fait remarquable que, dans notre série, le siège buccal soit systématique, souvent exclusif et la race Boxer très fréquemment concernée (6 fois sur 10). Des études épidémiologiques antérieures, résumées dans un travail récent [12] ont montré, sur de larges séries, que les races Boxer, Cocker spaniel, Setter sont significativement plus souvent concernées que les autres ($P < 0{,}001$). S'il est par ailleurs admis que, chez le chien, l'atteinte muco-cutanée constitue [13] le mode d'expression clinique le plus fréquent (60 % des cas), se singularisant en cela de l'espèce humaine où la localisation oropharyngée est plus rarement observée, aucune série n'avait montré, jusque-là, une telle électivité topographique.

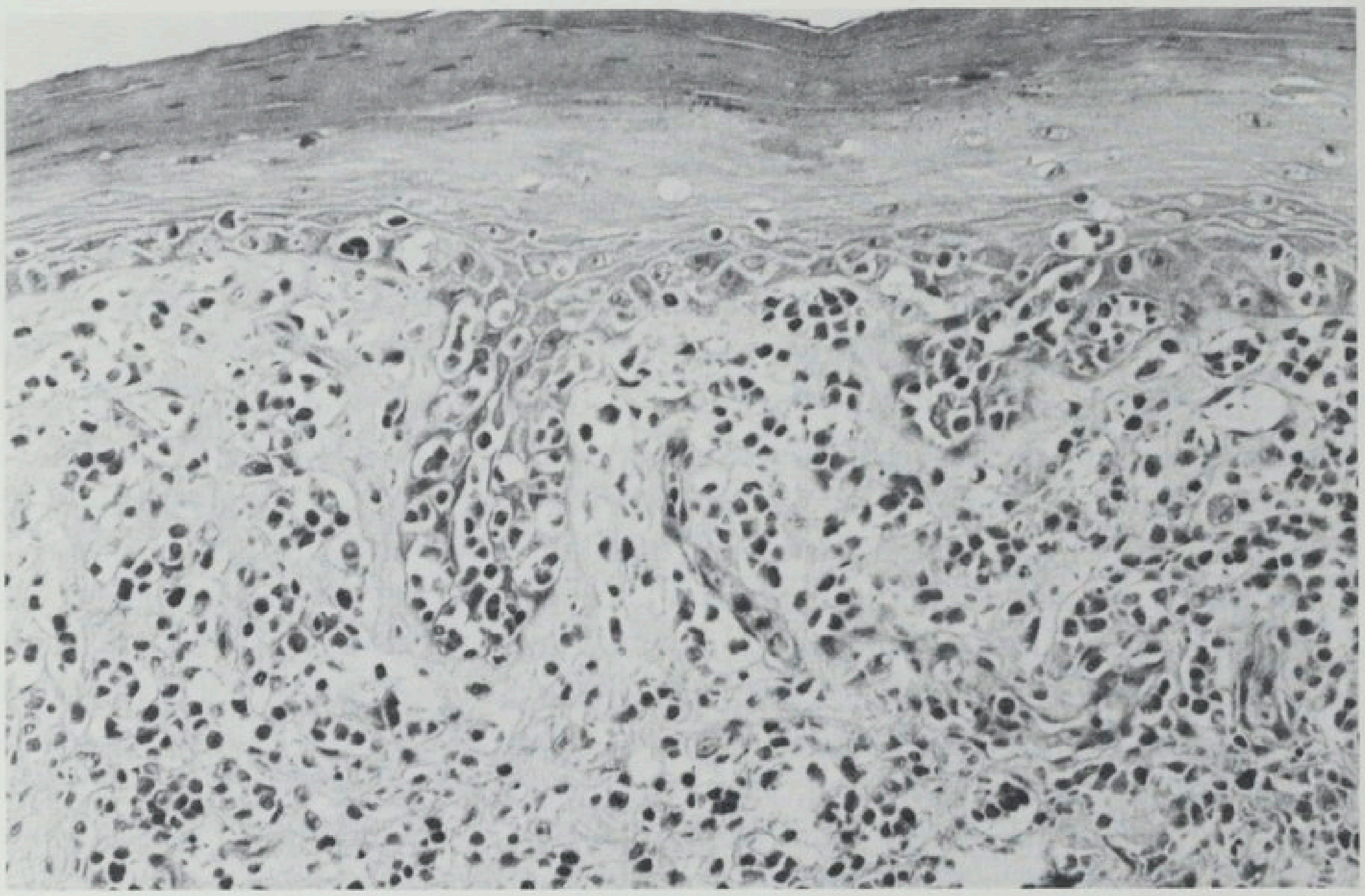


FIG. 1. — Epidermotropisme marqué sous forme de cellules isolées et de micro-abcès de Pautrier. Scrotum/périphérie d'un nodule (cas n° 2). Hématéine-éosine. Obj 20.

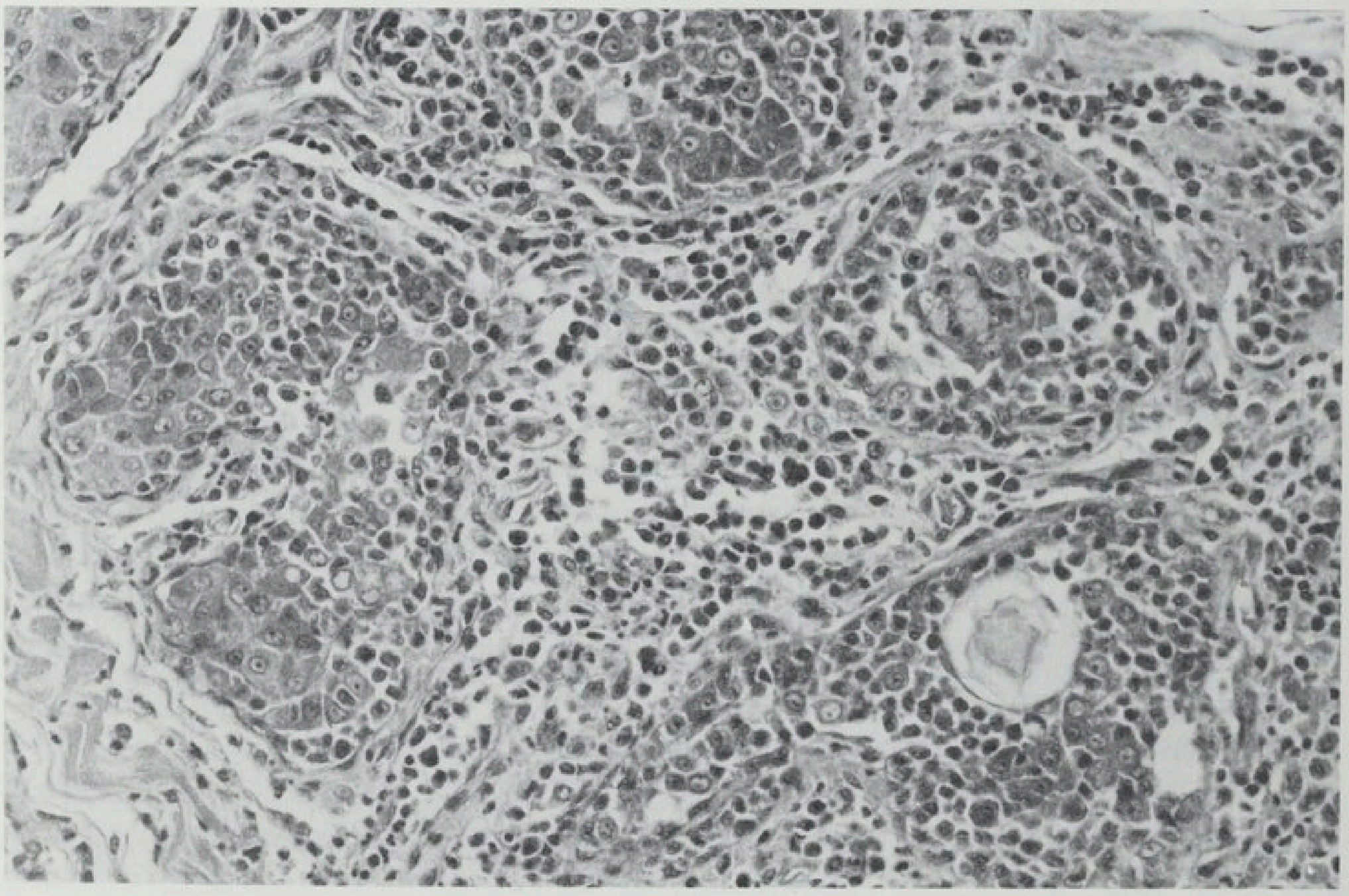


FIG. 2. — Epithéliotropisme massif sous forme de cellules isolées. Glandes circum-anales ou hépatoïdes (cas n° 1). Hématéine-éosine. Obj 20.

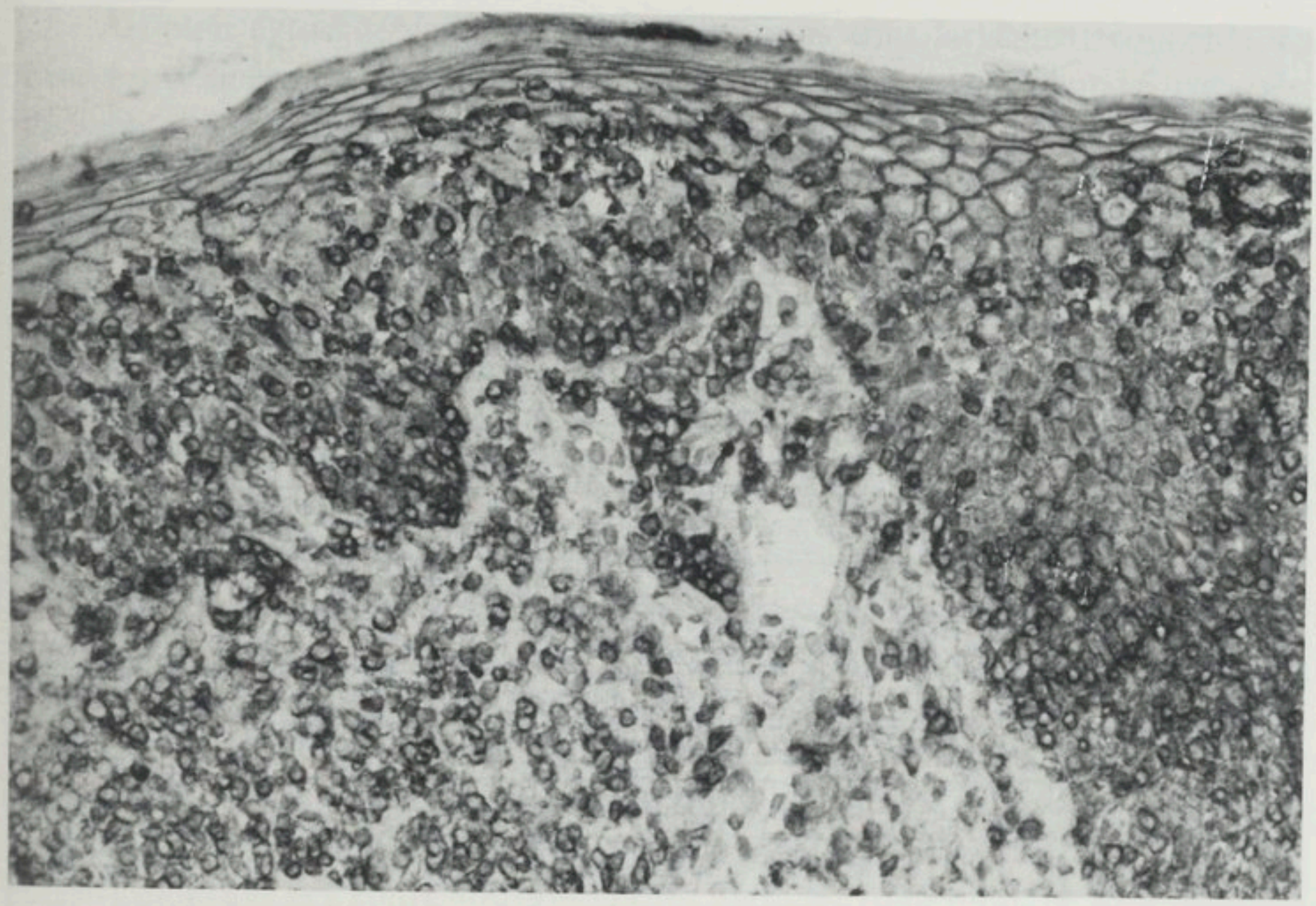


FIG. 3. — Les lymphocytes infiltrant le chorion et la muqueuse expriment tous le CD3. Muqueuse buccale/érythème (cas n° 3). Immunohistochimie. AcPo anti CD3. Obj 20.

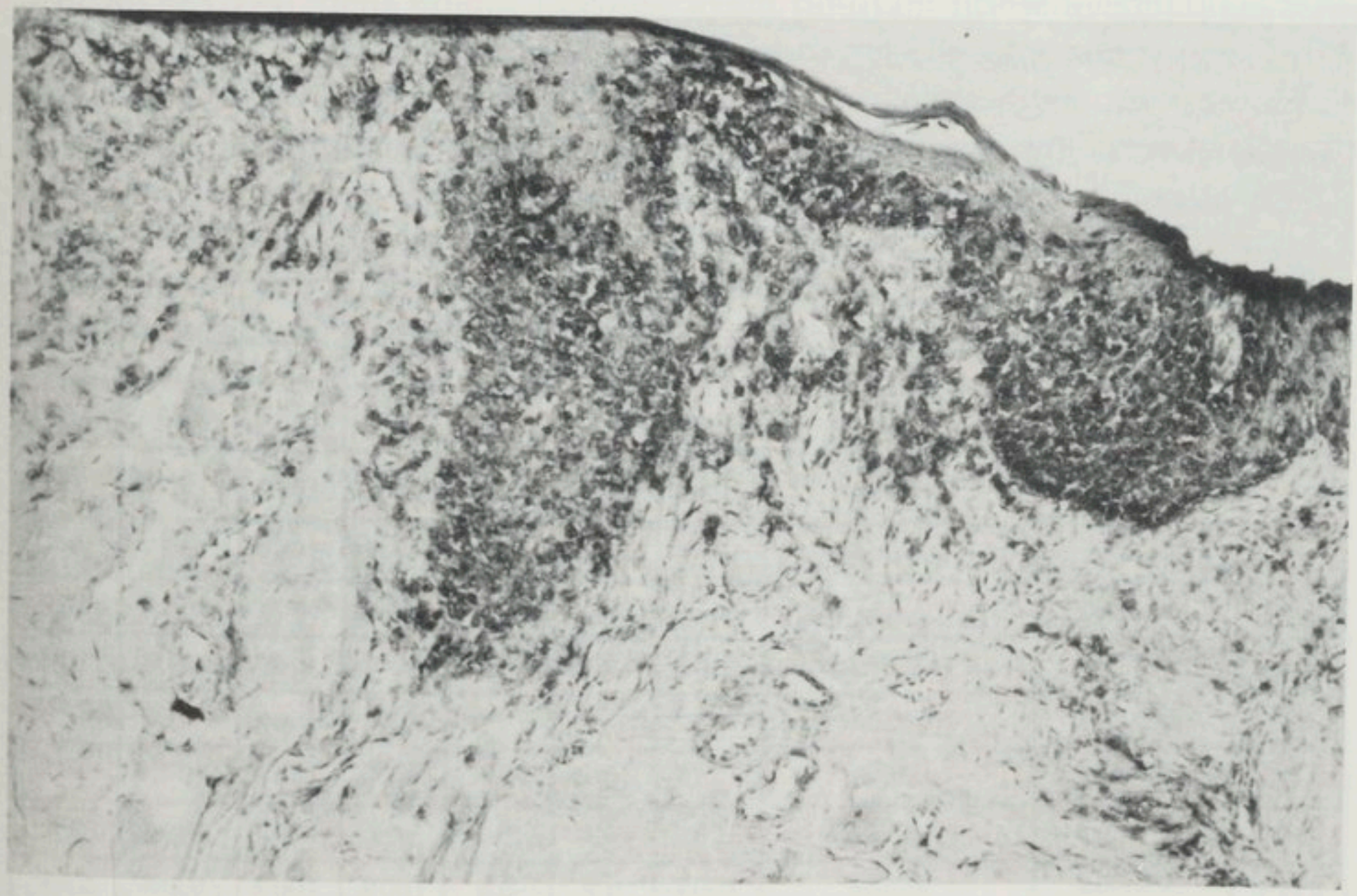


FIG. 4. — Les lymphocytes $CD3^+$, pour la plupart de topographie intraépithéliale, expriment majoritairement le CD8. Muqueuse buccale/érythème (cas n° 3). Immunohistochimie. AcMo anti CD8. Obj 10.

TABLEAU 3. — Résultats des immunomarquages sur coupes en congélation et en paraffine.

TABLEAU 3 a. — Immunophénotype des cellules tumorales infiltrant l'épithélium buccal.

| Cas n° | Stades cliniques | Epithéliotropisme | CD3 | CD5 | CD4 | CD8 | CD45 | CMH-II | Ki-67 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Cas 1 | Plaques, ulcères | Important | 100% | 0% | 0% | 100% | 100% | 80% | ND |
| Cas 2 | Nodules, plaques | Très faible | 100% | 80% | 0% | 100% | 100% | 100% | ND |
| Cas 3 | Erythème | Important | 100% | 100% | 0% | 100% | 100% | 100% | 52% |
| Cas 4 | Nodules | Faible | 100% | 30% | 0% | 100% | 100% | 100% | ND |
| Cas 5 | Erythème | Important | 100% | 100% | 0% | 100% | 100% | 30% | ND |
| Cas 6 | Nodules | Très faible | 100% | 20% | 0% | 100% | 100% | 20% | ND |
| Cas 7 | Erythème | Important | 100% | 100% | 0% | 100% | 100% | 100% | ND |
| Cas 8 | Nodules | Très faible | 100% | 100% | 0% | 100% | 100% | 100% | ND |
| Cas 9 | Nodules | Modéré | 100% | 0% | 0% | 100% | 100% | 100% | ND |
| Cas 10 | Plaques | Important | 100% | 100% | 0% | 100% | 100% | 100% | ND |

ND : non déterminé

TABLEAU 3 b. — Immunophénotype des cellules tumorales infiltrant le chorion de la muqueuse buccale

| Cas n° | Stades cliniques | Epithéliotropisme | CD3 | CD5 | CD4 | CD8 | CD45 | CMH-II | Ki-67 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Cas 1 | Plaques, ulcères | Important | 100% | 0% | 0% | 100% | 100% | 80% | 16% |
| Cas 2 | Nodules, plaques | Très faible | 100% | 80% | 30% | 70% | 100% | 100% | 13% |
| Cas 3 | Erythème | Important | 100% | 100% | 25% | 60% | 100% | 100% | 8% |
| Cas 4 | Nodules | Faible | 100% | 30% | 25% | 75% | 100% | 100% | 50% |
| Cas 5 | Erythème | Important | 100% | 100% | 10% | 90% | 100% | 30% | 10% |
| Cas 6 | Nodules | Très faible | 100% | 20% | 20% | 80% | 100% | 20% | 7% |
| Cas 7 | Erythème | Important | 100% | 100% | 5% | 95% | 100% | 100% | 20% |
| Cas 8 | Nodules | Très faible | 100% | 100% | 10% | 90% | 100% | 100% | 8% |
| Cas 9 | Nodules | Modéré | 100% | 0% | 0% | 100% | 100% | 100% | 13% |
| Cas 10 | Plaques | Important | 100% | 100% | 15% | 85% | 100% | 100% | 23% |

Au plan cyto-histologique, nos observations sont largement concordantes avec les données publiées [6, 14]. L'épithéliotropisme constituant un caractère distinctif majeur, nous lui avons accordé un intérêt tout particulier. Les modalités de l'infiltration sont schématiquement au nombre de deux. L'une s'opère sous la forme d'un flux de cellules isolées, analogue à la forme désignée dans l'espèce humaine par le qualificatif de « totalement épidermotrope ». L'autre, plus classique, se traduit par la présence de micro-abcès de Pautrier. La première modalité est plus fréquente dans les stades débutants (érythème) et en périphérie des tumeurs (cette constatation étant conditionnée par une exérèse généreuse, intéressant les marges du nodule) mais les 2 modalités peuvent s'associer sur le même sujet ayant fait l'objet de biopsies multiples. Par ailleurs, l'intensité de l'épithéliotropisme est fonction de l'expression clinique. Maximale pour les formes débutantes (érythème, plaques surtout) elle diminue jusqu'à parfois disparaître pour les formes nodulaires. Intensité et modalités de l'épithéliotropisme nous semblent en fait varier, pour un sujet donné, en fonction de la maturité de la lésion et il apparaît pour l'heure illusoire, compte tenu de l'extrême polymorphisme de l'image histologique d'une biopsie à l'autre, de découper des entités décalquées de la Pathologie Humaine. Cependant, l'évolution péjorative et l'épithéliotropisme très marqué, voire total, ne sont pas sans rappeler le type Ketron-Goodman de la RP de l'homme. Si tous les auteurs vétérinaires s'accordent pour considérer la cellule du MF comme T (puisqu'exprimant le CD3), deux études récentes, ayant pourtant utilisé une méthodologie identique, sont cependant en contradiction en ce qui concerne son appartenance aux populations T exprimant le CD4 ou le CD8 (nous préférons cette dénomination à celle de lymphocytes auxiliaires ou suppresseurs/cytotoxiques en l'absence de données publiées concernant leur rôle fonctionnel exact chez le chien). L'étude de Fivenson [5] a porté sur quinze cas. Les immunomarquages avec l'AcMo anti-CD8 n'ont été pratiqués que dans cinq cas alors que l'ensemble des quinze tumeurs a été soumis à l'AcMo anti-CD4. Un phénotype $CD4^+$ majoritaire (+ de 50 % des lymphocytes) est retrouvé dans six cas sur quinze (soit 40 % des cas) alors qu'un phénotype $CD8^+$ dominant est présent dans deux cas sur cinq (40 % également). Une étude ultérieure porte sur huit cas, dont deux font partie de l'étude précédente. L'immunophénotype a été déterminé dans sept cas sur huit. Deux cas partagés avec l'étude précédente sont majoritairement $CD4^+$ (>75 % des cellules). Quatre autres cas sont à l'opposé majoritairement $CD8^+$, en l'absence de lymphocytes $CD4^+$ (deux cas), ou accompagnés d'un très faible contingent (deux cas). Le 7$^e$ cas est composé aux 3/5$^e$s de cellules $CD4^+$ pour 2/5$^e$s de cellules $CD8^+$. L'étude de Moore [6] a porté sur 23 cas de MF qui expriment 19 fois, un immunophénotype $CD8^+$ alors qu'aucun cas n'est $CD4^+$. Les autres cas [4] sont doublement négatifs ($CD8^-/CD4^-$).

Pour les 10 cas ayant fait l'objet de cette étude, toutes les cellules tumorales sont des lymphocytes T $CD3^+$ et la grande majorité d'entre eux (de 60 à 100 %)

exprime le CD8, indépendamment de leur siège (chorion ou épithélium). Nos résultats sont donc en accord avec ceux de Moore [6] qui observe, pour la peau, la présence de lymphocytes $CD8^+$ aussi bien dans le tissu épithélial (épiderme, follicules, glandes sébacées et sudorales apocrines), que dans le derme. Toutefois, alors que cet auteur note un épithéliotropisme marqué et constant, indépendamment du stade clinique, nous avons constaté que la « charge » intraépithéliale en cellules $CD8^+$ variait de maximale dans les lésions débutantes (plaques infiltrées) à minimale dans les lésions nodulaires. La présence des lymphocytes $CD4^+$ est, pour le chorion, inconstante (deux de nos cas en sont dépourvus) et d'importance variable (de 5 à 30 %) mais toujours minoritaire par rapport à la population exprimant le CD8. Par ailleurs, ces lymphocytes de phénotype CD4, ne montrant strictement aucun épithéliotropisme, constituent probablement un contingent de lymphocytes réactionnels dont la présence et l'importance ne semblent pas corrélées au stade clinique. A l'exception de deux cas (n$^{os}$ 1 et 9), les cellules tumorales expriment le CD5 de façon inversement proportionnelle à l'ancienneté de la lésion. C'est ainsi que 100 % des lymphocytes $CD8^+$ sont $CD5^+$ au stade de l'érythème et, à l'exception du cas n° 8, ce pourcentage diminue considérablement pour les stades nodulaires. Cette observation ne recoupe pas exactement celle de Moore [6] signalant une expression généralement faible du CD5 et indépendante du stade clinique. Les résultats des marquages obtenus à l'aide des Ac anti CMH de classe II, anti CD45 sont, par contre, identiques à ceux publiés par cet auteur. Plus originales sont les données obtenues à l'aide de l'AcMo MIB1 anti-antigène de prolifération nucléaire Ki-67. Ce marqueur des cellules engagées dans un cycle de division [10, 15] est exprimé en moyenne et pour le chorion par 13 % des cellules au stade de l'érythème, par 17 % des cellules au stade des plaques infiltrées et par 18 % au stade nodulaire. Ce pourcentage autorise à classer ce lymphome parmi les LMNH canins de faible malignité (travaux non publiés). Il est par ailleurs intéressant de noter pour le cas n° 3 au stade de l'érythème et il s'agit là d'une observation à notre connaissance inédite dans l'espèce canine, que le pourcentage des cellules tumorales Ki-$67^+$ situées dans l'épithélium est nettement plus élevé (52 %) que celui des cellules tumorales marquées présentes dans le chorion (8 %). Cette observation va dans le même sens que celle de Nickoloff [16] pour le MF à cellules $CD4^+$ de l'homme (15 à 75 % des cellules intra-épidermiques sont Ki-$67^+$). Il semblerait que, dans les stades débutants, la pénétration intra-épithéliale des lymphocytes T $CD8^+$ s'accompagne de leur entrée dans un cycle cellulaire et probablement de l'apparition d'un micro-climat moléculaire assurant l'amplification du phénomène, pourtant susceptible de s'inverser au cours des stades ultérieurs aux dépens du chorion.

Une meilleure connaissance du déterminisme moléculaire de ces différentes étapes critiques (franchissement de la paroi vasculaire, épithéliotropisme et multiplication intraépithéliale puis perte de l'épithéliotropisme et invasion du chorion), préciserait les contours du modèle canin. Original en raison de parti-

cularités cliniques (importance des atteintes des muqueuses), cytologiques (aspect « histiocytaire » des cellules des nodules) et immunophénotypiques (expression du CD8 à l'image de ce qui est observé chez l'homme, depuis l'observation de Mackie [17], dans bon nombre de Réticuloses Pagétoïdes d'évolution rapide ou lente [18]), le lymphome T cutanéo-muqueux épithéliotrope du chien constitue cependant un intéressant modèle de pathologie spontanée proche de la RP type Ketron-Goodman de l'homme, qui pourrait s'avérer utile pour :

— incriminer divers facteurs étiologiques (le chien, commensal étroit de l'homme, est soumis aux mêmes facteurs environnementaux),
— éclairer les mécanismes physiopathologiques de cette affection,
— tester l'efficacité de stratégies thérapeutiques nouvelles.

REMERCIEMENTS : Ce travail n'aurait pas été possible sans l'importante collaboration des Docteurs-vétérinaires J.L. Agar, L. Bartholin, C. Bornot, N. Delmas, M. Jolivet, C. Magalon, D. Moreau et de Mme Véronique Rocheix, technicienne (LAPVSO).

RÉSUMÉ

Notre série de 10 lymphomes T cutanéo-muqueux épithéliotropes concerne des sujets âgés, surtout de race Boxer (6 cas sur 10). Siègeant sur les muqueuses (buccales surtout) et les jonctions muco-cutanées, leur expression clinique est polymorphe. Les lésions se succèdent dans le temps (érythème, plaques, nodules) et s'associent diversement sur le même animal, les frontières entre les différents stades étant souvent difficiles à établir. L'épithéliotropisme, maximal pour le stade des plaques infiltrées, se manifeste soit sous la forme d'un flux de cellules isolées totalement épithéliotropes (type Ketron-Goodman), soit sous forme de micro-abcès de Pautrier.

Toutes les cellules de morphologie lymphocytaire sont, sans exception, $CD3^+$, $CD45^+$, indépendamment de leur situation au sein de l'épithélium ou du chorion. Les cellules $CD3^+$ de l'épithélium sont systématiquement $CD8^+$, $CD4^-$ (confirmant les observations de Moore), expriment le CD5 de façon variable et majoritairement (pour 1 cas) l'Ag nucléaire de prolifération Ki-67. Les cellules $CD3^+$ du chorion sont exclusivement ou majoritairement $CD8^+$, occasionnellement $CD4^+$. Elles expriment le CD5 de façon variable et minoritairement l'Ag Ki-67. Au plan pathogénique, on peut avancer l'hypothèse qu'un clone T, $CD8^+$, dont l'origine peut-être discutée, cutanée ou extra-cutanée, entre dans un cycle cellulaire au sein de l'épithélium puis manifeste un tropisme pour le chorion qu'il infiltre.

MOTS-CLÉS : CHIEN. LYMPHOME. MUQUEUSE BUCCALE. MYCOSIS FONGOÏDE. RÉTICULO-ENDOTHÉLIOSE. CHIEN, maladie. PAGET EXTRAMAMMAIRE, maladie.

*Bull. Acad. Natle. Méd.*, 1996, *180*, n° 2, 449-462, séance du 20 février 1996

SUMMARY : *Clinical, histological and immunohistochemical data from 10 cases of canine muco-cutaneous epitheliotropic lymphomas (Mycosis fungoides-like). Usefulness of a spontaneous disease model.*

Our serie of ten canine cutaneous epitheliotropic T-cell lymphomas (CTCL), is found in old dogs, belonging mainly to the Boxer breed.

Sited on the mucous membranes (especially buccal), the muco-cutaneous junctions, their clinical expression is polymorphous. Lesions, follow on one after another (erythema, plaques, nodules) and are diversely associated in a given animal, the borders between the different stages often being difficult to establish. Adenopathies noted at the time of the diagnosis or during the course of the condition are accompanied by an involvement of the blood and organs (analogous to Sézary's disease). The progression of the disease can be very rapid in the buccal forms, which are generally aggressive, and in cases of violent, uncontrollable pruritis, which may be disturbing for the owner (with requests for euthanasia). The neoplastic infiltrate is constituted of small lymphocytes with hyperchromatic, convoluted nuclei (incipient stages), then large cells with a « histiocytic » appearance for the nodules. Epitheliotropism, which is maximal for the infiltrated plaque stage, shows up either in the form of a flux of totally epitheliotropic isolated cells (Ketron-Goodman type) or in that of Pautrier abscess-like collections. The veterinary literature is in agreement that the CTCL cell expresses CD3, but two recent studies are in contradiction as regards its membership of helper or cytotoxic/suppressor populations. For our 10 cases, all the cells of lymphocytic morphology were, without exception, $CD3^+$ and $CD45^+$, irrespective of their situation within the epithelium or the chorion. The $CD3^+$ cells in the epithelium were systematically $CD8^+$, $CD4^-$ (confirming P.F. Moore's observations), expressing CD5 in a variable way, and, mostly, the Ki-67 nuclear proliferation Ag. The $CD3^+$ cells of the chorion were exclusively, or mainly, $CD8^+$, and occasionally $CD4^+$. They expressed CD5 in a variable way, and, for a minority, the Ki-67 nuclear proliferation Ag.

On the pathogenic level, it may be suggested that a T clone, $CD8^+$, undergoes the « homing » phenomenon within the epithelium, enters the cell cycle, then manifests a tropism towards the chorion, which it infiltrates. Despite some particularities, which may be clinical (serious mucous attacks), cytological (the « histiocytic » appearance of the nodule cells) or immunophenotypic (expression of CD8, similar to what is observed in man in a considerable number of Pagetoid reticulosis), CTCL constitutes an interesting model of spontaneous pathology, and could prove useful in :

— identifying various etiological factors (given that the dog, as a close commensal of man, is subject to the same environmental factors),

— clarifying the physiopathological mechanisms of this condition, and
— testing the efficacy of new therapeutic strategies.

KEY-WORDS (Index Medicus) : DOGS. LYMPHOMA. MOUTH MUCOSA. MYCOSIS FUNGOIDES. RETICULOENDOTHELIOSIS. PAGET'S DISEASE, EXTRA-MAMMARY. DOG DISEASES.

## BIBLIOGRAPHIE

[1] KELLY D.F., HALIWELL R.E.W., SCHWARTZMAN R.M. — Generalised cutaneous eruption in a dog with histological similarity to human mycosis fungoïdes. *Br. J. Dermatol.*, 1972, *86*, 164-171.

[2] MAGNOL J.P., CARLOTTI D., OLIVRY Th. — T-Lymphome cutané chez un Chien évoquant le Mycosis Fongoïde de l'Homme. *Pratique médicale et chirurgicale de l'animal de compagnie*, 1985, *20* [2], pp. 135-141.

[3] JOHNSON J.A., PATTERSON J.M. — Canine epidermotropic lymphoproliferative disease resembling pagetoid reticulosis in man. *Vet. Pathol.*, 1981, *18*, 487-493.

[4] WALTON D.K. — Canine epidermotropic lymphoma, in Current veterinary therapy, small animal practice. IX., KIRK R.W. (ed), W.B. Saunders compagny, Philadelphia, 1986, 609-614.

[5] FIVENSON D.P., BECK E.R., DUNSTAN R.W., NICKOLOFF B.J., MOORE P.F. — Dermal Dendrocytes and T-Cells in Canine Mycosis Fungoides. *Cancer*, 1992, *70*, [8], 2091-2098.

[6] MOORE P.F., OLIVRY T., NAYDAN D. — Canine cutaneous epitheliotropic lymphoma (mycosis fungoides) is a proliferative disorder of $CD8^+$ T cells. *Am. J. Pathol.*, 1994, *144*, 421-429.

[7] FERRER L., FONDEVILA D., RABANAL R., RAMIS A. — Detection of T lymphocytes in canine tissue embedded in paraffin wax by means of antibody to CD 3 antigen. *J. Comp. Pathol.*, 1992, *106*, 311-314.

[8] COBBOLD S., METCALFE S. — Monoclonal antibodies that define canine homologues of human CD antigens : summary of the First International Canine Leukocyte Antigen Workshop (CLAW). *Tissue Antigens*, 1994, *43*, 137-154.

[9] FALINI B., FLENGHI L., FAGIOLI M., STEIN H., SCHWARTING R., RICCARDI C., MANOCCHIO I., PILERY S., PELICCI P.G., LANFRANCONE L. — Evolutionary conservation in various mammalian species of the human proliferation-associated epitope recognized by the Ki-67 monoclonal antibody. *J. Histochem. Cytochem.*, 1989, *37*, 1471-1478.

[10] FOURNEL C., MAGNOL J.P., MARCHAL Th., GHERNATI I., CHABANNE L., BRYON P.A., FELMAN P. — Detection of the Ki-67 proliferation-associated nuclear antigen in normal canine lymphoid lymph node cells by the use of the monoclonal antibody MIB-1. *Revue Méd. Vét.*, 1994, *145*, 10, 749-753.

[11] FOURNEL C., MAGNOL J.P., MARCHAL Th., CHABANNE L., BRYON P.A., FELMAN P. — An original marginal zone cell in the canine reactive lymph node : a morphologic, phenotypic and etiologic study. *J. Comp. Pathol.*, 1995, *113*, 217-231.

[12] DEGORCE F. — Contribution à l'étude de l'analogue du « Mycosis Fongoïde » chez le chien : revue bibliographique, étude histologique, ultrastructurale et immuno-histochimique. E.N.V Alfort, Thèse pour le doctorat vétérinaire, 1993.

[13] Wilcock B.P., Yager J.A. — The behaviour of epidermotropic lymphoma in twenty-five dogs. *Can. Vet. J.*, 1989, *30*, 754-756.

[14] Fournel C., Magnol J.P., Guelfi J.F. — Atlas en couleur de Cytologie du Cancer chez le chien et le chat. PMCAC Paris, 1994.

[15] Gerdes J., Schwab U., Lemke H., Stein H. — Production of a mouse monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen associated with cell proliferation. *Int. J. Cancer*, 1983, *31*, 13-20.

[16] Nickoloff B.J., Griffiths C.E.M. — Intraepidermal but not dermal T lymphocytes are positive for a cell-cycle-associated antigen (Ki-67) in Mycosis Fungoides. *American Journal of Pathology*, 1990, *136*, 2, 261-265.

[17] Mackie R.N., Turbitt M.L. — A case of Pagetoid reticulosis bearing the T cytotoxic suppressor surface marker on the lymphoid infiltrate : further evidence that Pagetoid reticulosis is not a variant of mycosis fungoides. *British Journal of Dermatology*, 1984, *110*, 89-94.

[18] Agnarsson B.A., Vonderheid E.C., Kadin M.E. — Cutaneous T cell lymphoma with suppressor/cytotoxic (CD8) phenotype : Identification of rapidly progressive and chronic subtypes. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 1990, *22*, 569-577.

## DISCUSSION

M. Jean Civatte : Il est intéressant de noter l'importance, chez le chien, des lésions muqueuses, généralement discrètes, voire absentes, dans le *Mycosis fongoïde* de l'homme. L'intérêt des facteurs environnementaux est également à souligner, car ils sont souvent envisagés dans la forme humaine.

M. Charles Pilet : Compte tenu de la prédominance des lymphocytes CD8, je souhaiterais savoir si vous avez une expérience de l'utilisation d'immunostimulants dans cette affection ?

M. Magnol : — à M. Civatte : Le chien, étroit commensal de l'homme, subit à l'évidence l'action des mêmes facteurs environnementaux, qu'ils soient potentiellement cancérigènes ou susceptibles de provoquer une dermite allergique. A cet égard, il est à signaler, outre l'intervention possible de virus, la relation entre *Mycosis fongoïde* canin et irritation chronique provoquée par les huiles de moteurs, le gasoil... Quant aux manifestations cliniques, il est certain, en effet, que la fréquence et la gravité des localisations buccales constituent un trait particulier et c'est la raison pour laquelle j'ai insisté sur les analogies d'ordre évolutif, cytohistologique et immunohistochimique.

— à M. Pilet : En effet, les lymphocytes exprimant le CD8 sont, chez le chien, très souvent sur le devant de la scène en pathologie néoplasique ou inflammatoire et cela pourrait bien être le reflet d'un système immunitaire cutané particulier, dont les caractéristiques n'ont pas encore été clairement établies. En revanche, je n'ai pratiquement pas d'expérience personnelle sur l'utilisation d'immuno-stimulants lors de *Mycosis fongoïde* canin et la bibliographie reste, à ma connaissance, muette sur ce point.

*Bull. Acad. Natle. Méd.*, 1996, *180*, n° 2, 463-473, séance du 27 février 1996

# Responsabilités et médicaments génériques

Pierre JOLY *

Le « Médicament Générique » est aujourd'hui, dans notre pays et à l'étranger, au centre des débats qui traitent de la prescription et des conséquences de celle-ci sur les dépenses de l'assurance-maladie. Mais ces débats oublient parfois d'en étudier l'impact éventuel sur la Santé Publique au plan de la Recherche, de la qualité de la production, et surtout de la liberté de la prescription...

Rappelons d'abord que l'on entend par « spécialité pharmaceutique », tout médicament préparé à l'avance, présenté sous un conditionnement particulier et caractérisé par une « dénomination spéciale ».

Dans les textes communautaires (Directive 87/21 du 22.12.86) et nationaux (Décret du 6 mai 1988, modifiant l'art. 5133 — 1 du Code de la Santé Publique) le terme d'origine anglo-saxonne « GENERICS » n'est pas repris. L'expression « Spécialité essentiellement similaire » lui a été préférée.

La spécialité similaire est ainsi définie comme : « Ayant la même composition qualitative et quantitative en principes actifs, la même forme pharmaceutique si, le cas échéant, la bio-équivalence a été démontrée par des études appropriées de biodisponibilité ».

Cette définition porte sur la nature chimique et l'activité pharmacologique du médicament terminé, sans allusion à la protection industrielle (marque et brevet) de la spécialité originale copiée.

En matière de marque, (la « dénomination spéciale » citée dans la définition de la Spécialité Pharmaceutique), il faut constater qu'il existe 2 sortes de génériques : la « spécialité similaire » désignée uniquement par sa dénomination commune internationale, suivie ou pas du nom du fabriquant, et la « spécialité similaire » de marque (ou « Branded Generic » en anglais) qui se caractérise par une « dénomination spéciale » : la marque.

Au plan de la protection par le Brevet, rappelons que le Brevet protège toute invention non encore rendue publique.

---

* Président de la Fondation pour la Recherche Médicale, 54, rue de Varennes. 75335 Paris cedex 07.
Membre de l'Académie nationale de Médecine.

*Tirés-à-part* : Professeur Pierre JOLY, à l'adresse ci-dessus.
*Article reçu le 22 mai 1995, accepté le 27 novembre 1995.*

En échange de cette protection transitoire (20 ans dans la plupart des pays après l'accord du GATT), l'inventeur accepte, à la fin du délai de protection, de faire profiter l'ensemble de l'humanité de sa découverte. L'invention tombe alors dans le domaine public.

Dans certains pays, c'est le cas des pays de l'Union Européenne, une disposition, appelée Certificat Complémentaire de Protection, complète le dispositif qui permet d'éviter un épuisement du droit accordé par le brevet. Ce prolongement de protection est dû aux délais administratifs de plus en plus longs pour obtenir l'enregistrement d'un médicament nouveau. Ces délais sont d'ailleurs d'autant plus longs, que le médicament est très innovant et pose, au plan scientifique, des questions nouvelles parfois longues à élucider.

Ainsi, le médicament similaire ou générique apparaît bien comme une copie conforme et légale d'un médicament qui n'est plus protégé par un brevet et / ou un certificat complémentaire de protection.

L'entreprise pharmaceutique qui veut mettre un « générique » sur le marché va bénéficier d'un certain nombre d'avantages.

D'abord, cette entreprise privilégiera très logiquement la copie d'un médicament très connu et bien installé plutôt que celle d'un médicament au marché plus modeste, même si son intérêt thérapeutique est important.

Ensuite, au plan de l'enregistrement, les autorités acceptent de prendre en compte les publications des travaux scientifiques effectués par le médicament copié. Elles exigent seulement :

— un dossier pharmaceutique complet permettant de garantir la qualité du produit, vérifié secondairement par des inspections portant, en particulier, sur l'origine du principe actif et la conformité du produit manufacturé aux spécifications du dossier.

— une étude de bio-équivalence démontrant que le devenir du produit dans l'organisme est le même que celui du produit copié.

L'entreprise n'a pas non plus à supporter de frais de recherche ou de développement.

Enfin, l'effort d'information du prescripteur est réduit puisqu'il s'agit de la copie d'un médicament qu'il connaît bien et dont il maîtrise l'emploi.

Il est donc tout à fait normal que le générique soit notablement moins cher (de 10 à 50 %) que le produit copié.

A l'échelon du monde, la pénétration des génériques présente des situations très contrastées qui sont, cependant, pleines d'enseignements.

Dans les pays industrialisés, on s'aperçoit que l'importance de la pénétration des génériques est directement proportionnelle au niveau moyen des prix des spécialités copiées.

Les pays où les prix moyens (base 155) sont les plus élevés : Etats-Unis, Allemagne, Hollande, Danemark, Grande-Bretagne, voient leurs prescriptions comporter en moyenne 20 % de génériques (exprimés en valeur).

Dans les pays ou les prix moyens sont bas (base 100) : France, Espagne, Italie, Portugal, la pénétration est beaucoup plus faible. Le degré de pénétration, par exemple, est de 2 % en France, alors que la moitié du catalogue des médicaments est copiable !

D'une façon générale, une décote de 35 % par rapport aux prix européens décourage les fabricants de génériques, ce qui est le cas de la France.

Il arrive même, dans notre pays, que le prix de la spécialité originale soit moins élevé que le prix du générique qui souhaiterait la concurrencer !

La consommation de médicaments est caractérisée, en France, par des prix bas et des volumes importants. L'existence de génériques a prix bas risque donc d'avoir peu d'action sur les volumes.

Elle est aussi caractérisée par des prescriptions de médicaments récents, chers.... et protégés par un brevet qui rend les génériques inopérants !

C'est la raison pour laquelle, le médicament générique ne répond pas réellement à la situation du marché en France, puisqu'il ne donne qu'un avantage en matière de prix, ce qui n'est pas le problème essentiel.

Enfin, il faut relativiser l'impact économique des génériques sur les dépenses de médicament, car, comme le dit le docteur Cousteix, « le générique n'est qu'un petit instrument dans la maîtrise des dépenses de santé », puisque le médicament ne représente que 13,5 % des dépenses totales de l'assurance-maladie.

Ceci explique aussi les différences d'attitude des collectivités qui prennent en charge tout ou partie du remboursement des médicaments (centrales d'achat aux Etats-Unis ou incitation des autorités nationales à une prescription bon marché, comme c'est le cas dans les pays de l'Union Européenne).

On peut imaginer que, lorsque les prix seront à peu près au même niveau au plan européen, la pénétration de tous les marchés européens par les génériques sera identique, du seul fait de la concurrence.

En effet, rien dans la législation communautaire n'empêche d'acheter un médicament dans un des pays de la communauté et de l'exporter dans un des autres pays s'il possède une Autorisation de Mise sur le Marché (AMM) dans le pays importateur. Les seules difficultés existent au niveau de la langue souvent, de l'agrément ou non sur les listes locales de remboursement, parfois aussi au niveau des prix qui évoluent dans le temps, au gré des disparités monétaires ou de l'importance des conditionnements.

On constate donc qu'au plan économique le générique ou spécialité essentiellement similaire peut apporter des réponses intéressantes, dans la mesure où il créé une concurrence par les prix.

Dans les faits, le générique est de maniement délicat et pose des problèmes réels :

— aux industriels,

— aux médecins prescripteurs,

— aux pharmaciens dispensateurs.

Les industries du médicament, qui ont fondé leur avenir sur la recherche, voient leur effort de recherche menacé par l'apparition des génériques. Car il est impossible, en effet, sauf à atteindre des prix par boîte économiquement insupportables, d'amortir les frais de recherches sur le seul médicament qui en est issu.

En effet, l'importance des budgets de recherche et de développement est de un milliard à un milliard et demi de francs pour un nouveau produit. Il faut donc amortir ces frais sur tous les médicaments du laboratoire. Si certains de ces médicaments sont copiés par des génériques, leurs prix devront diminuer pour pouvoir continuer d'exister. Mais dès cet instant, ces médicaments copiés ne pourront plus cotiser à l'effort de recherche du Laboratoire.

La négation de cette évidence, lorsqu'elle existe, est souvent fondée sur des comparaisons de situations non comparables.

La surveillance de la qualité de la fabrication est d'autant plus importante qu'aucune analyse ne peut garantir une totale identité et qu'il faut pouvoir identifier le fabricant, en particulier du principe actif. La transparence totale des pratiques commerciales est également absolument indispensable et nécessairement rigoureuse pour éviter les excès qui pourraient être néfastes pour la santé des malades et la déontologie.

Pour les médecins, dans la mesure où le générique, de composition, de qualité identique et de bio-équivalence parfaite, offre une alternative à une prescription plus onéreuse, le prescripteur, encadré qu'il sera de plus en plus par des préoccupations économiques, peut trouver là une économie dans les dépenses de médicaments dont il sera tenu pour responsable par les autorités publiques.

Les hôpitaux ont la possibilité de s'approvisionner en médicaments par appel d'offres. Ils ont ainsi un droit de substitution de fait.

Si l'on met à part ce cas particulier, peu important en volume, trois cas de figure sont usuellement envisagés en « médecine de ville » :

— le pharmacien exécute strictement l'ordonnance prescrite par le médecin. Dans ce cas, il n'y a aucune modification des modes de dispensation habituels et la liberté de prescription est respectée ;

— les instances publiques autorisent ou forcent le pharmacien à substituer un générique au produit prescrit par le médecin. Cette solution pose un

problème de principe grave, car la liberté de prescription du médecin n'existe plus.

En cas d'accident consécutif à cette substitution, la responsabilité du pharmacien n'est pas encore, aujourd'hui, clairement définie.

Si le Pharmacien possède un droit de substitution, les laboratoires pharmaceutiques de génériques n'auront même plus à informer prioritairement le médecin qui n'est plus l'ordonnateur final du médicament délivré.

Par ailleurs, certains pharmaciens ne seront-ils pas tentés de procéder, à qualité égale à leurs yeux, à des substitutions dont les mobiles seront uniquement économiques, pour la collectivité ou pour eux-mêmes ?

Signalons, enfin, que la situation difficile faite aujourd'hui aux pharmaciens au plan économique risque de s'aggraver fortement et de remettre en cause le maillage pharmaceutique de notre pays, si leur chiffre d'affaires baisse simultanément en valeurs et en unités, sans parler d'une difficulté accrue de gestion de leur stock par l'apparition de spécialités supplémentaires, sous forme de génériques.

*
* *

En conclusion, on peut porter à l'actif et justifier ainsi le médicament générique :

— il est la contrepartie normale, en économie libérale, du monopole transitoirement accordé au découvreur par le brevet en échange de l'obligation de divulguer, ensuite, son invention à la fin de la période de protection ;

— il peut représenter une économie dans le coût de la prescription du médicament, surtout lorsque le prix des médicaments copiés est particulièrement élevé ;

— il peut permettre à des pays en difficulté, de s'approvisionner à bon compte en « médicaments essentiels » ;

Par contre :

— les risques, à terme, pour la recherche et le développement de médicaments nouveaux sont préoccupants. D'autant que, paradoxalement, le générique ne peut exister que dans la mesure où la recherche découvre de nouveaux produits !

— la qualité du générique prescrit, doit être totalement identique et conférer les mêmes garanties de bio-équivalence et de sécurité que le médicament copié, pour éviter tout risque pour la santé des malades ;

— la substitution, par le pharmacien, du médicament prescrit par un autre médicament, fut-il générique, ne semble pouvoir se concevoir qu'en urgence

absolue si l'on veut respecter la liberté de prescription du médecin (l'urgence absolue pouvant survenir lorsque le pharmacien se trouve en présence d'une prescription quasi vitale et dans l'impossibilité de joindre le prescripteur ou de disposer du médicament prescrit. Ce qui peut arriver en période de garde) ;

— Enfin, la vigilance doit également être de rigueur quand on fait entrer la concurrence dans l'accomplissement d'un acte de santé ! C'est pourquoi, je pense que, pour des raisons d'éthique évidentes, il faut tout faire pour éviter « d'intéresser » volontairement ou involontairement, à quelque niveaux que ce soit, la dispension d'un médicament, fut-il générique.

RÉSUMÉ

Le « générique » ou « Spécialité essentiellement Similaire » en France, obéit à une logique économique qui n'est pas sans créer une situation beaucoup plus complexe que partisans ou détracteurs de ce type de médicaments le laissent entendre.

Assez faciles à mettre sur le marché lorsqu'un médicament nouveau n'est plus protégé par un brevet, les génériques sont bien adaptés aux pays où le prix moyen du médicament est élevé. Ils créent ainsi une concurrence par les prix. En France, où la consommation de médicament est plus préoccupante par le volume prescrit que par les prix pratiqués, qui comptent parmi les plus faibles du monde industriel, l'intérêt du générique semble moins important.

Par contre, la recherche de médicaments nouveaux peut-être compromise. De plus, introduire la concurrence en matière de Santé doit rendre très vigilant sur la qualité des génériques ainsi produits et sur leurs conditions de prescription et de dispensation.

MOTS-CLÉS : INDUSTRIE PHARMACEUTIQUE. MÉDICAMENTS. ORDONNANCE MÉDICALE MÉDICAMENT. MÉDICAMENT PHASE RECHERCHE. DÉPENSES DE SANTÉ.

SUMMARY : *Consequences of generics in France*

The existence of generics is essentially due to the competition between pharmaceutical specialites by the prices at the end of patent protection. It could be useful in the countries where the prices are very high. In France, the consumption of drugs is high in volume and the average of prices of pharmaceuticals is low. So the generics is not able to really solve the problem of pharmaceuticals' consumption.

Moreover one must be vigilant from healthcare point of vue for the quality of production. The consequences at the level of pharmaceutical researches could

be significant. At last, the eventual right of substitution can threaten the freedom of prescription.

KEY-WORDS (Index Medicus) : DRUGS. DRUG INDUSTRY. PRESCRIPTIONS, DRUG. DRUGS, INVESTIGATIONAL. EXPENDITURES, HEALTH.

## DISCUSSION

M. Roger NORDMANN : Ma question concerne le devenir de la marque lors de la fin de validité du brevet. Si, comme je le pense, la marque reste protégée malgré l'extinction du brevet et si le médecin prescrit une marque de médicament, le pharmacien aurait-il, néanmoins, le droit de la substituer par un générique ? D'autre part, des industriels envisagent-ils de produire, en fin de brevet, à la fois le même médicament sous son nom de marque et sous forme de générique (comme cela est souvent le cas dans diverses industries autres que celle du médicament) ?

M. Yves RAOUL : Pour s'assurer de l'identité original-générique, il faudrait toujours connaître le fabricant réel ? Mais si celui-ci n'est que l'acteur terminal, ne peut-on pas demander une réglementation à ce sujet ?

M. Claude SUREAU : Le caractère « essentiellement similaire » d'un générique n'entraîne-t-il pas deux conséquences ? d'une part une conséquence liée à l'acquisition d'un « savoir-faire » qui va au-delà de la connaissance de la stricte composition chimique, et qui a donc un coût. D'autre part, jusqu'où doit-on pousser la recherche de la similarité ? celle-ci va-t-elle jusqu'à concerner l'ensemble des métabolites, ce qui peut être difficile, en particulier en hormonologie, et de toute façon, là encore, coûteux.

M. Charles COMBESCOT : 1) Faut-il, pour les génériques, déposer un dossier AMM, ce qui peut paraître logique eu égard aux excipients et à la forme galénique utilisés ? En effet, en ce qui concerne les insecticides pédiculicides, étant donnée l'apparition de résistances aux molécules utilisées, un générique devrait apporter la preuve de son efficacité à l'aide de tests appropriés. 2) Pourrait-on considérer que les inucticides pédiculicides vendus actuellement dans les grandes surfaces sont des génériques plus ou moins déguisés et non justiciables d'une AMM ?

M. François PERCHERON : Sans doute verrons-nous, de plus en plus, des médicaments innovants obtenus par les biotechnologies. Peut-on penser que de tels produits sont plus difficiles à copier que beaucoup de molécules de synthèse, et que le risque de voir des génériques en ce domaine sera moindre ? Une même molécule obtenue par génie génétique, selon deux processus différents, n'aura

pas, dans chaque cas, les mêmes impuretés, ce qui peut rendre très difficile le contrôle des matières premières.

M. Jean COTTET : Que pensez-vous du mot générique ? Au début de votre exposé, vous avez dit qu'il y avait 3 types de générique et que le terme à une origine anglaise. Le mot générique est français. Il existe dans tous les dictionnaires français, mais non dans les dictionnaires de médecine. Dans son dictionnaire de 1983, Thuillier, cependant, utilise le mot « générique » à la place de « commun ». Dans le dictionnaire médical de Littré (1873), on trouve le mot générique dans le sens de genre... Il n'existe pas, dans les livres récents, de thérapeutique ou de pharmacologie.

M. Jean-Charles SOURNIA : Le mot « générique » comme substantif, se répand dans l'usage français, il est compris, et les lexicographes doivent s'incliner devant l'usage. Le mot est correctement formé à partir du latin *genus, generis* qui signifie espèce, famille, race. Par ailleurs, la substantivation d'un adjectif est banale dans notre langue. Aussi, le substantif générique figurera-t-il dans le *Dictionnaire de l'Académie de Médecine*.

M. Emile ARON : Votre exposé ne nous fait pas espérer une réduction notable des dépenses de santé avec les médicaments génériques. Le coût de la santé préoccupe toutes les instances publiques et professionnelles, avez-vous des solutions à proposer sur ce chapitre de la thérapeutique ? Pour ma part, je pense que nous devrions souligner dans ces études, qu'en matière de santé, il est contraire à la morale de vouloir équilibrer les dépenses avec les recettes !

M. Pierre PICHOT : Pourriez-vous préciser la durée du brevet par rapport à la formule chimique, à l'indication thérapeutique, et au cas particulier où une indication nouvelle est découverte pour un produit déjà utilisé ?

M. Pierre BOULARD : Quelle que soit la présentation que fait le copieur du produit, celui-ci doit-il reproduire toute la chaîne de fabrication ou bien peut-il aussi acheter le produit novateur au fabricant innovant, qui peut y trouver avantage, par accord commercial, pour la diffusion de son propre produit et l'abaissement consécutif de son coût relatif de fabrication ?

M. Maurice GOULON : Pouvez-vous nous apporter des précisions sur deux points concernant les génériques : 1) Un laboratoire pharmaceutique propriétaire d'un brevet peut, quand celui-ci est tombé dans le domaine public, fabriquer lui-même un ou plusieurs génériques pour gêner la concurrence éventuelle : à ces génériques, peut-on donner des noms de fantaisie ? 2) Le même laboratoire peut vendre la matière première qui avait fait l'objet d'un brevet dans d'autres pays et à des prix différents. Quelles sont, dans ces deux circonstances, les mesures nouvelles auxquelles devra se soumettre ce laboratoire alors qu'il aurait reçu, en France, une AMM pour le produit original ?

M. Maurice GUÉNIOT : La réglementation prévoit que les génériques sont soumis à la même surveillance que les médicaments originaux. Mais qu'en est-il

actuellement, en réalité, dans les pays du marché commun. Il y a quelques années, l'un de ceux-ci a acheté à un pays de l'Est de la tétracycline à un prix si bas que celle-ci a emporté la totalité du marché, aucune industrie n'étant capable de produire le même médicament à un prix si bas. Ce n'est qu'au bout d'un certain temps que l'on s'est aperçu que cette vente à bon marché avait été rendue possible non pas par un défaut de qualité du médicament, mais beaucoup plus simplement du fait que chaque comprimé ne contenait que les deux tiers de la dose annoncée. Le fabricant a disparu mais le même pays a pu continuer à exporter d'autres molécules. Il est bien évident qu'aucune industrie importante de la Communauté Européenne n'aurait pu se permettre une pareille escroquerie sous peine de couler ; il y a, par la force des choses, un auto-contrôle de l'industrie. Mais, pour les génériques, les dispositifs officiels de contrôle sont-ils, en pratique, suffisants pour garantir la sécurité des usagers ?

M. Joly : — à M. Nordmann : La durée de la marque n'est effectivement pas dépendante de la durée de validité du brevet et lui survit. Dans l'état actuel des législations européenne et française, la substitution d'un générique sous Dénomination Commune ou sous marque de fantaisie à un médicament prescrit n'est pas autorisée, sauf urgence (art. 5015-61 du Code de la Santé Publique). Enfin, certains industriels du Médicament, pour éviter l'attaque des génériques produits par des tiers, seront certainement enclins à mettre sur le marché des génériques, organisant ainsi leur propre concurrence.

— à M. Raoul : Il est certain que l'identification du producteur de la forme galénique, responsable également de l'approvisionnement en matière première, devrait être connue de tous pour, au-delà même de la définition des responsabilités *a posteriori*, pouvoir intervenir très tôt pour protéger la santé du public.

— à M. Sureau : La maîtrise d'une formule galénique est chose très délicate et assez longue à acquérir, elle a donc effectivement un coût. La bioéquivalence dans notre droit doit être totale, mais il est vrai que la complexité de certaines molécules et leur devenir, comme dans le cas des hormones, est grande et doit nécessiter des travaux coûteux. Mais, le coût des deux types de travaux auxquels vous faites allusion est relativement modeste, comparé à l'ensemble des travaux de Recherche et de Développement.

— à M. Combescot : Dans l'état actuel des textes, un générique, supposé par définition identique à la molécule initiale, n'a pas à faire la preuve de son efficacité. Par contre, j'avoue mon incompétence pour répondre à la deuxième partie de la question.

— à M. Percheron : Votre remarque est extrêmement pertinente. Mais on manque encore de recul pour s'exprimer très nettement. Par contre, il est déjà prévu, dans certains pays, que les moyens d'obtention de la matière première font partie du dossier assurant la qualité constante d'un principe actif. Dans le

cas que vous soulevez, cette disposition devrait être imposée et la toxicité des impuretés possibles appréciée.

— à M. Cottet : Il est vrai que le mot « générique » est, quelque part, la francisation du terme anglo-saxon « generic ». Mais on peut aussi considérer qu'il est la substantivation de l'adjectif bien français « générique ». En fait, l'expression « Médicament essentiellement similaire », certes plus précise mais trop longue, n'a pas pu encore pénétrer dans le langage courant.

— à M. Sournia : Je ne peux que prendre note de votre déclaration.

— à M. Aron : Il est vrai qu'en toute circonstance la priorité doit être donnée au système de santé. Le débat actuel est par trop réducteur en le limitant aux seuls moyens de financement de notre politique de Santé ! Il est commun de dire qu'il faut d'abord « dépenser mieux ». Nous savons les uns et les autres que cette formule, sans doute un peu générale, a un contenu concret. Dans le domaine du médicament, par exemple, la stricte observance de la prescription, qui parfois est inférieure à cinquante pour cent, éviterait certainement des gaspillages de soins ultérieurs.

— à M. Pichot : La durée du brevet, dans les pays industrialisés, est désormais de vingt années, à compter de la date du dépôt. Généralement, le produit chimique est protégé par son procédé de fabrication. Le principe actif médicamenteux le sera, lui, essentiellement pour ses propriétés pharmacologiques. Si une nouvelle indication, pour un médicament déjà breveté, entre dans le périmètre des premières indications, la protection n'est pas possible. Si, par contre, cette nouvelle indication est totalement différente, elle est brevetable. Mais il faut souligner que l'inventeur de la première indication essaie, bien sûr, de déposer le périmètre le plus large possible. De là, naissent contestations et procès ! Enfin, dans le cas du médicament, depuis quelques années, au plan de l'Union Européenne, un Certificat Complémentaire de Protection vient compenser partiellement le temps que l'inventeur a consacré aux travaux scientifiques qui lui sont demandés par l'Administration pour obtenir l'Autorisation de Mise sur le Marché.

— à M. Boulard : Comme vous le suggérez, l'entreprise de générique n'est pas tenu de reproduire toute la chaîne de fabrication et peut acheter sa matière première auprès du laboratoire qui a découvert le médicament original. Cela donnerait à la fois une garantie sur l'identité de la matière première et permettrait, sans doute, une diminution du coût de production. Mais la logique du générique relevant de la concurrence par les prix du produit innovant, les terrains d'entente ne sont pas toujours faciles à trouver !

— à M. Goulon : La réponse est oui à la première question et cette auto-concurrence suivra les règles d'enregistrement normales pour les génériques. Le laboratoire qui a découvert un nouveau principe actif en maîtrise aussi généralement la production. Il peut le fournir à qui respectera le brevet du

médicament correspondant. Dans le cas des génériques, il sera tenté de chercher une autre source d'approvisionnement, ce qui est généralement le cas.

— à M. Guéniot : Vous venez de citer un des trop nombreux cas où l'économie à tout prix a montré ses limites. Les administrations sont très vigilantes pour surveiller la qualité des génériques, mais elles ne peuvent contrôler tous les lots avant leur mise sur le marché. La réponse est donc en théorie oui, mais en pratique, je serais beaucoup plus dubitatif pour la raison que je viens d'exposer.

*Bull. Acad. Natle. Méd.*, 1996, *180*, n° 2, 475-488, séance du 27 février 1996

# L'angiotensine IV, un nouveau composant du système rénine-angiotensine actif sur les cellules rénales

Raymond ARDAILLOU *, Dominique CHANSEL

## Introduction

Le système rénine-angiotensine, présent dans de nombreux tissus, est le principal système régulateur de la pression artérielle et de la volémie. L'angiotensine II (Ang II) et l'angiotensine III (Ang III) étaient considérées, jusqu'à présent, comme les deux effecteurs terminaux d'une cascade d'hydrolyses enzymatiques commençant avec le clivage de l'angiotensinogène par la rénine pour produire l'angiotensine I (Ang I), un decapeptide inactif. L'angiotensine II, hormone essentielle du système, est obtenue à partir de l'Ang I par délétion des deux acides aminés C terminaux sous l'effet de l'enzyme de conversion. L'Ang III provient de l'Ang II par perte de l'acide aspartique N terminal, réaction dépendant de l'aminopeptidase A (Fig. 1). L'Ang III possède la plupart des effets de l'Ang II et reconnaît les mêmes récepteurs. Il était également admis que ces deux peptides étaient dégradés en fragments inactifs par diverses peptidases. Cette opinion était basée sur l'impossibilité d'obtenir les effets connus de l'Ang II par administration à l'animal de ces fragments [1]. La démonstration récente que les récepteurs de l'Ang II sont hétérogènes a fait reconsidérer le problème. Il est apparu qu'à côté des 2 sous-types essentiels des récepteurs de l'Ang II, appelés $AT_1$ et $AT_2$, existaient d'autres récepteurs dont certains étaient spécifiques des métabolites de l'Ang II. En particulier, l'hexapeptide 3-8 de l'Ang II, obtenu par délétion des 2 acides aminés N terminaux et appelé maintenant angiotensine IV (Ang IV) se fixe spécifiquement sur des récepteurs distincts de ceux de l'Ang II ne reconnaissant aucun de leurs antagonistes peptidiques ou non peptidiques. Réciproquement, les récepteurs $AT_1$ et $AT_2$ de l'Ang II ne reconnaissent pas l'Ang IV [2]. La liaison de l'Ang IV à ses récepteurs conduit à des effets physiologiques qui commencent à être décrits, certains semblables à ceux de l'Ang II tels l'augmentation de la synthèse des protéines ou la stimulation du calcium intracellulaire [3, 4], d'autres différents comme l'augmentation du flux sanguin rénal [2].

* INSERM 64, Hôpital Tenon, 4, rue de la Chine, 75020 Paris — Fax : 40.30.20.89.

*Tirés-à-part* : M. R. Ardaillou, à l'adresse ci-dessus.
*Article reçu le 5 décembre 1995, accepté le 18 décembre 1995.*

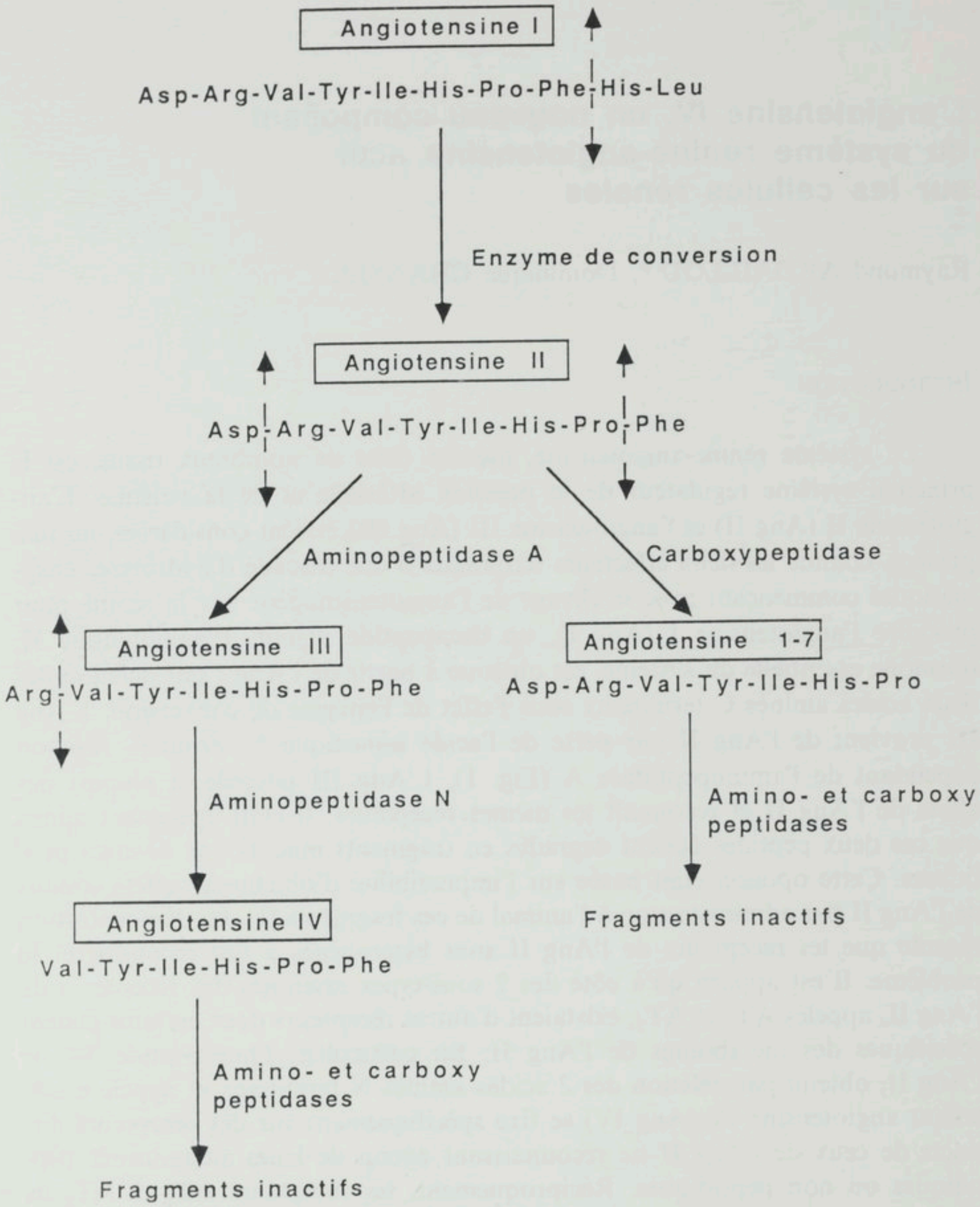



FIGURE 1. — Les angiotensines et leur catabolisme. Les sites de clivage enzymatique sont indiqués par des doubles flèches discontinues.

Les enzymes transformant l'Ang II en Ang IV, qui sont l'aminopeptidase A pour la première délétion et l'aminopeptidase N pour la seconde, sont présentes dans beaucoup de tissus, suggérant que certains des effets attribués jusqu'à maintenant à l'Ang II pourraient dépendre de l'Ang IV. Le rein, entre

autres, est très riche en ces deux enzymes, particulièrement à la surface des podocytes glomérulaires [5] et sur la bordure en brosse du tube proximal [6]. De plus, l'Ang II est formée en quantité importante par le tissu rénal, comme en témoigne sa concentration 1 000 fois plus élevée dans l'urine primitive que dans le plasma. Pour ces différentes raisons, nous avons pensé que des récepteurs de l'Ang IV étaient présents dans les reins et responsables d'effets biologiques. Le but de cette étude a été de rechercher de tels récepteurs dans les cellules mésangiales dont dépendent la vasomotricité glomérulaire et les cellules principales du tube collecteur, lieu de l'ajustement final du bilan du sodium.

## 2. Méthodes

### 2.1. **Culture de cellules mésangiales et de cellules principales du tube collecteur.**

Les glomérules sont isolés à partir de cortex de rats Sprague-Dawley mâles pesant entre 100 et 150 g, selon une technique précédemment publiée [7]. Ils sont ensuite traités par la collagénase, ensemencés dans des flacons de culture en plastique et incubés dans un milieu de culture commercial (RPMI 1640) additionné de sérum de veau fœtal (10 %), de L-glutamine (1 mmol/L), de pénicilline (50 µg/mL) et de sulfate de streptomycine (50 µg/mL) et tamponné à pH 7,4 avec 10 mmol/L d'acide N — (2-hydroxy-ethyl)-1-pipérazine-éthane sulfonique (HEPES). Le milieu de culture est changé tous les deux jours. Dans ces conditions, les cellules mésangiales croissent lentement et atteignent leur densité maximum le 22$^{e}$ jour. A cette date, les autres types cellulaires ne sont plus détectables. Les cellules mésangiales ont été étudiées après un ou deux passages. Leur identité a été confirmée par leur morphologie et la mise en évidence d'antigènes spécifiques [8].

Les cellules du tube collecteur proviennent d'une lignée obtenue par transfection d'une suspension de cellules tubulaires humaines par une souche de virus SV-40 incapable de se répliquer. Cette lignée a été identifiée précédemment et exprime, pour l'essentiel, les caractéristiques des cellules principales [9]. Ces cellules sont cultivées dans un milieu défini contenant de la transferrine (5 µg/mL), du seléniate de sodium (50 nM), de la glutamine (2 mM), de la dexaméthasone (50 nM), de l'insuline (5 µg/mL) et du tampon HEPES (20 mM, pH 7,4). Du sérum de veau fœtal est ajouté en faible concentration (2 %). Le milieu est changé tous les deux à trois jours. Nous avons étudié les cellules à confluence entre le 20$^{e}$ et le 47$^{e}$ passage.

### 2.2. **Préparation de membranes cellulaires.**

Les cellules du tube collecteur étant disponibles en abondance du fait de la rapidité de leur multiplication, des membranes ont été préparées à partir d'un

homogénat cellulaire centrifugé à 40 000 g pendant 20 min à 4°C en présence d'inhibiteurs des peptidases [10]. La suspension membranaire a été utilisée immédiatement après avoir été obtenue.

### 2.3. **Etudes de liaison.**

Elles ont été effectuées sur des cellules intactes ou des membranes cellulaires en utilisant, comme ligand, la [$^{125}$I]-Ang IV. Les cellules sont étudiées en plaques de 12 puits. Après rinçage, elles sont incubées à 22°C avec, de manière habituelle, 0,15 nM de [$^{125}$I]-Ang IV dans 500 µL de tampon (NaCl, 135 mM ; Tris, 20 mM ; glucose, 5 mM ; KCl, 10 mM ; $NaCH_3COO$, 10 mM, $CaCl_2$, 2 mM ; albumine sérique bovine, 0,2 % ; pH 7,4) durant 90 min. Dans le cas des membranes, 100 µg de protéines membranaires sont incubées dans un volume total de 250 µL pendant 2 heures à 37°C, en présence d'inhibiteurs de peptidases. Après incubation, les cellules ou les membranes sont rincées puis les cellules sont dissoutes dans la soude avant comptage. Les membranes sont séparées du milieu d'incubation par filtration sous vide à travers un filtre Whatman. La radioactivité retenue sur le filtre est ensuite comptée. Dans tous les cas, la liaison non spécifique est mesurée en présence d'un excès de ligand non marqué et la liaison spécifique est calculée comme la différence entre la liaison totale et la liaison non spécifique.

### 2.4. **Dosage de l'AMP cyclique et du calcium intracellulaire.**

L'ensemble de l'AMP cyclique intracellulaire et excrété dans le milieu d'incubation a été mesuré après extraction par HCl à 0,1 M en utilisant un dosage radio-immunologique incluant un anticorps obtenu dans le laboratoire.

Le calcium cytosolique a été mesuré à l'aide d'une sonde fluorescente (Fura 2), sensible au calcium, en utilisant un spectrofluorimètre Perkin Elmer étalonné avec 20 µM d'ionomycine pour la fluorescence maximum et 10 mM d'EGTA pour la fluorescence minimum.

### 2.5. **Mesure de la contractilité des cellules mésangiales.**

Après lavage, les cellules mésangiales sont incubées dans leur milieu habituel à 37°C pendant 10 min et une première photographie est prise à titre de témoin. Le milieu est ensuite remplacé par un milieu identique contenant l'agent à étudier. Les cellules sont photographiées de nouveau après 10, 20 et 30 min de traitement. La surface de chaque cellule de la préparation est mesurée à chaque temps en utilisant un analyseur d'images [11].

## 3. Résultats

### 3.1. **Récepteurs de l'Ang IV à la surface des cellules mésangiales et effets de l'Ang IV sur ces cellules.**

La [$^{125}$I]-Ang IV se fixe de manière spécifique à la surface des cellules mésangiales de rat. En effet, les études cinétiques montrent que la liaison atteint un plateau au bout de 90 min. Au plateau, la fixation non spécifique représente environ 25 % de la fixation totale. De même, un équilibre de liaison est atteint en présence de concentrations croissantes de [$^{125}$I]-Ang IV dans le milieu. L'analyse des courbes obtenues permet de calculer une constante de dissociation apparente de l'Ang IV pour son récepteur de 5 nmol/L et une liaison maximum de 1280 fmol/mg. Le récepteur de l'Ang IV est spécifique de ce peptide. En effet, l'Ang IV non marquée déplace le ligand radioactif de son site de liaison avec une efficacité supérieure à celle des peptides apparentés (Fig. 2). L'ordre d'efficacité des différents peptides étudiés, mesurée par la concentration permettant 50 % d'inhibition ($IC_{50}$) est le suivant : Ang IV (0,1 µmol/L) > Ang III (0,22 µmol/L) > Ang II (5,6 µmol/L) > Ang II 4-8 (7,9 µmol/L) > Ang II 1-7 (> 10 µmol/L). Cette spécificité est confirmée par l'absence totale d'effet des antagonistes non peptidiques des récepteurs de l'Ang II, aussi bien les antagonistes des récepteurs $AT_1$ (losartan et CV 11974 fournis respectivement par Merck, Sharp and Dohme et Takeda) que ceux des récepteurs AT2 (PD 123177 fourni par Parke Davies) (Fig. 2). Réciproquement, l'Ang IV ne déplace pas la [$^{125}$I]-Ang II ou la [$^{125}$I]-Sar$^1$,Ala$^8$Ang II, antagoniste peptidique de l'Ang II, de leurs sites de liaison à la surface des cellules mésangiales que nous avons précédemment caractérisés comme des sites $AT_1$ [12]. Une autre différence avec les sites AT1 est l'absence d'effet inhibiteur, sur la fixation de la [$^{125}$I]-Ang IV, d'un analogue du GTP, le GTP-$\gamma$S suggérant l'absence de liaison entre le récepteur et une protéine G.

Un récepteur ne peut être considéré comme spécifique que si le ligand étudié produit un effet biologique à la suite de sa liaison à ce récepteur. Aussi avons nous recherché de tels effets de l'Ang IV dans les cellules mésangiales. L'Ang IV, à la concentration de 0,1 µmol/L, augmente la concentration de calcium cytosolique d'environ 50 %. L'Ang IV ne désensibilise pas les cellules mésangiales à l'Ang II qui stimule de nouveau le calcium intracellulaire lorsqu'elle est utilisée 2 min plus tard. Ces résultats confirment que les récepteurs de ces deux peptides sont distincts. Le caractère principal des cellules mésangiales est leur contractilité dont dépend la surface de filtration des capillaires glomérulaires. Cette contractilité peut être appréciée par la diminution de surface des cellules exposées à un agent vasoactif. La Fig. 3 montre que la surface des cellules mésangiales est réduite d'environ 17 % après 30 min d'incubation en présence de 10 nmol/L d'Ang II. L'Ang IV a, par elle-même, un faible effet

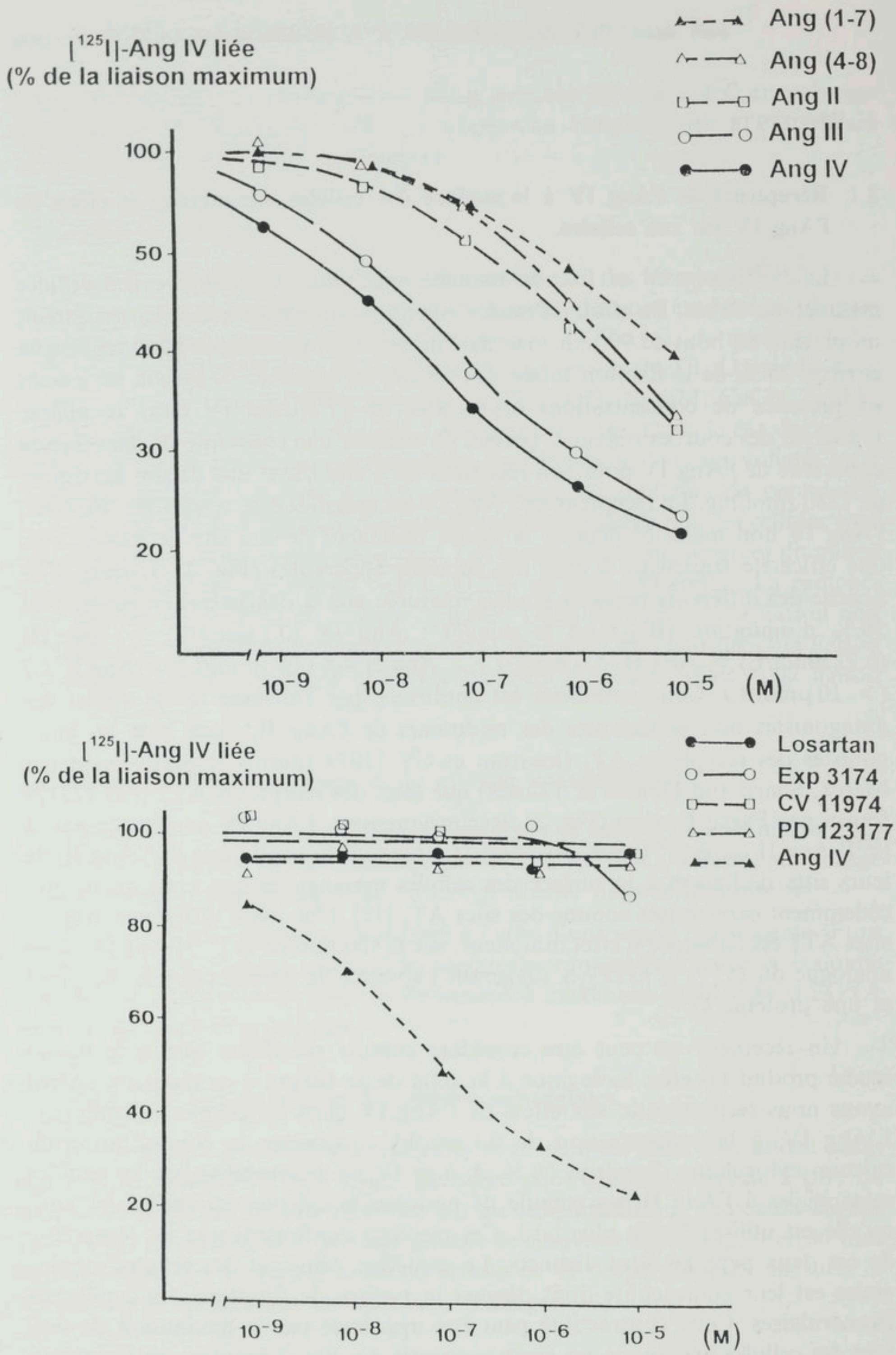



FIGURE 2. — Inhibition compétitive de la fixation de la [$^{125}$I]-Ang IV à ses sites de liaison sur les cellules mésangiales en présence de concentrations croissantes d'Ang IV non marquée et des peptides apparentés (haut), d'Ang IV non marquée et d'antagonistes non peptidiques des récepteurs de l'Ang II (bas).

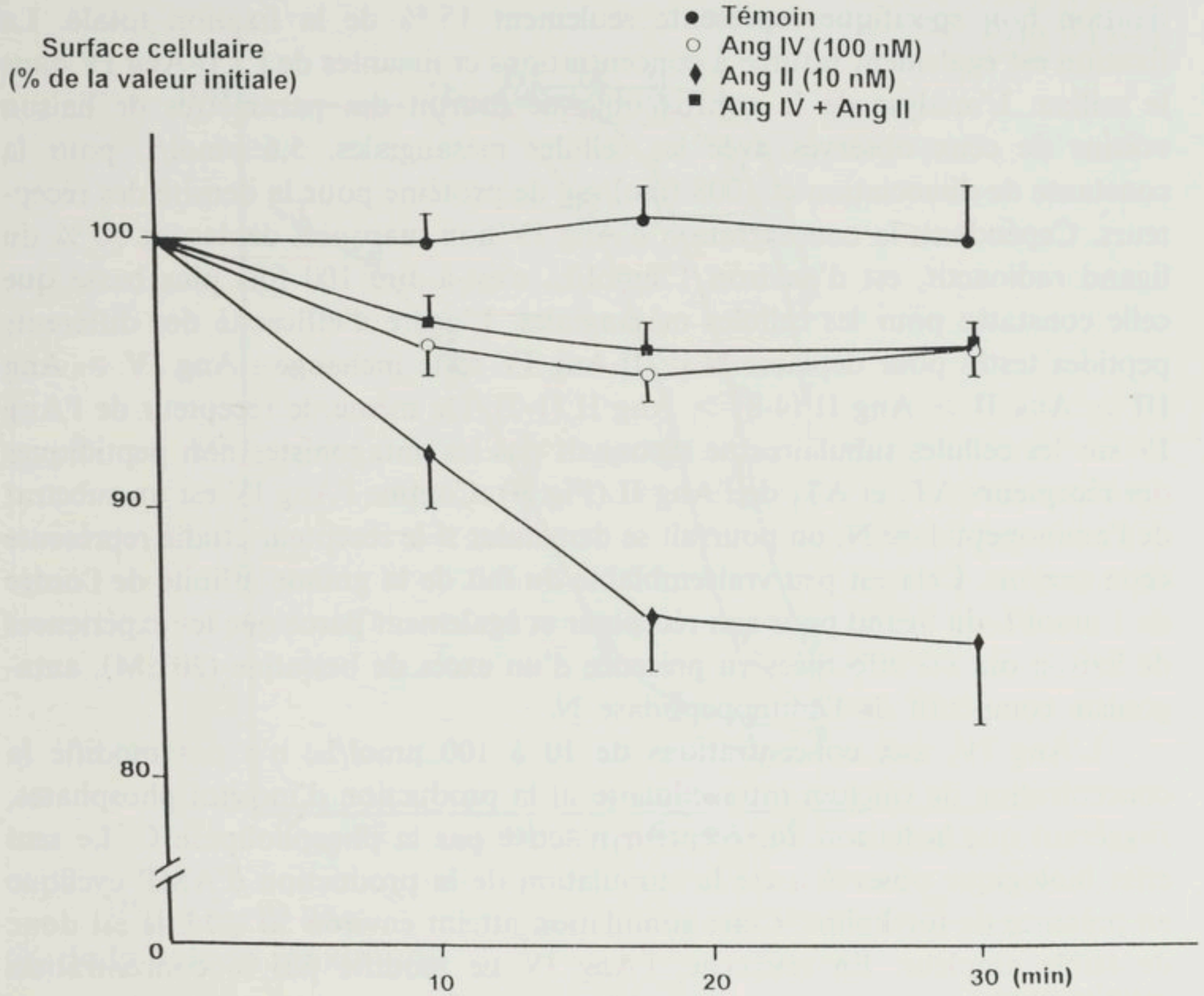



FIGURE 3. — Effets de l'Ang II et de l'Ang IV, séparément ou en association, sur la surface des cellules mésangiales.

puisqu'on observe une diminution d'environ 4 % de la surface des cellules traitées par ce peptide. De façon remarquable, l'Ang IV, utilisée conjointement avec l'Ang II, supprime l'effet vasoconstricteur de cette dernière. Dans ce modèle, l'Ang IV représente donc un antagoniste de l'effet biologique principal de l'Ang II par un mécanisme qui reste à déterminer.

### 3.2. **Récepteurs de l'Ang IV à la surface des cellules du tube collecteur et effets de l'Ang IV sur ces cellules.**

Les cellules principales du tube collecteur provenant d'une lignée transfectée, nous disposions d'un matériel suffisant pour préparer des membranes et obtenir ainsi une préparation partiellement purifiée de récepteurs. La [$^{125}$I]-Ang IV se fixe de manière spécifique à ces membranes comme aux cellules mésangiales. Des différences existent cependant dans les caractéristiques de la liaison. Un plateau est également obtenu après 90 min d'incubation, mais la

fixation non spécifique représente seulement 15 % de la fixation totale. La fixation est également saturée à concentrations croissantes de [$^{125}$I]-Ang IV dans le milieu. L'analyse de la courbe obtenue fournit des paramètres de liaison voisins de ceux observés avec les cellules mésangiales, 5,6 nmol/L pour la constante de dissociation et 1008 fmol/mg de protéine pour la densité des récepteurs. Cependant, la concentration d'Ang IV non marquée, déplaçant 50 % du ligand radioactif, est d'environ 1 nmol/L, c'est-à-dire 100 fois plus basse que celle constatée pour les cellules mésangiales. L'ordre d'efficacité des différents peptides testés pour déplacer la [$^{125}$I]-Ang IV reste inchangé : Ang IV > Ang III > Ang II > Ang II (4-8) > Ang II (1-7). De même, le récepteur de l'Ang IV sur les cellules tubulaires ne reconnaît pas les antagonistes non peptidiques des récepteurs $AT_1$ et $AT_2$ de l'Ang II (Fig. 4). Comme l'Ang IV est un substrat de l'aminopeptidase N, on pourrait se demander si le récepteur étudié représente cette enzyme. Cela est peu vraisemblable du fait de la grande affinité de l'ordre de 1 nmol/L du ligand pour son récepteur et également parce que les expériences de liaison ont été effectuées en présence d'un excès de bestatine (20 μM), antagoniste compétitif de l'aminopeptidase N.

L'Ang IV, aux concentrations de 10 à 100 nmol/L, n'a pas modifié la concentration de calcium intracellulaire ni la production d'inositol phosphates, suggérant que la liaison au récepteur n'active pas la phospholipase C. Le seul effet biologique observé a été la stimulation de la production d'AMP cyclique en présence de forskoline. Cette stimulation atteint environ 50 %. Elle est donc de faible ampleur. En revanche, l'Ang IV ne modifie pas la concentration d'AMP cyclique en conditions basales.

## 4. Discussion et Conclusions

Cette étude montre qu'il existe des récepteurs spécifiques de l'Ang IV dans le glomérule rénal à la surface des cellules mésangiales et dans le tube collecteur à la surface des cellules principales. La seule étude précédemment publiée [13] faisait état de sites de liaison de la [$^{125}$I]-Ang IV sur les membranes apicales et latérobasales des cellules du tube proximal de lapin ; mais aucune caractérisation de ces sites de liaison n'avait été rapportée. Les récepteurs que nous avons observés ont les caractéristiques pharmacologiques de ceux précédemment décrits dans d'autres préparations, cellules musculaires lisses vasculaires [10], surrénales [2] et membranes cellulaires cardiaques [14]. Le rôle de l'Ang IV dans ces deux parties du néphron ne peut être défini avec précision. Mais, des hypothèses peuvent être envisagées. Dans le glomérule, la production locale d'Ang IV à partir des concentrations élevées d'Ang II présentes localement [15] pourrait être considérée comme un moyen de régulation négative des effets de l'Ang II sur la filtration glomérulaire, puisque nous avons montré que l'Ang IV limitait le pouvoir de l'Ang II d'induire la contraction des cellules

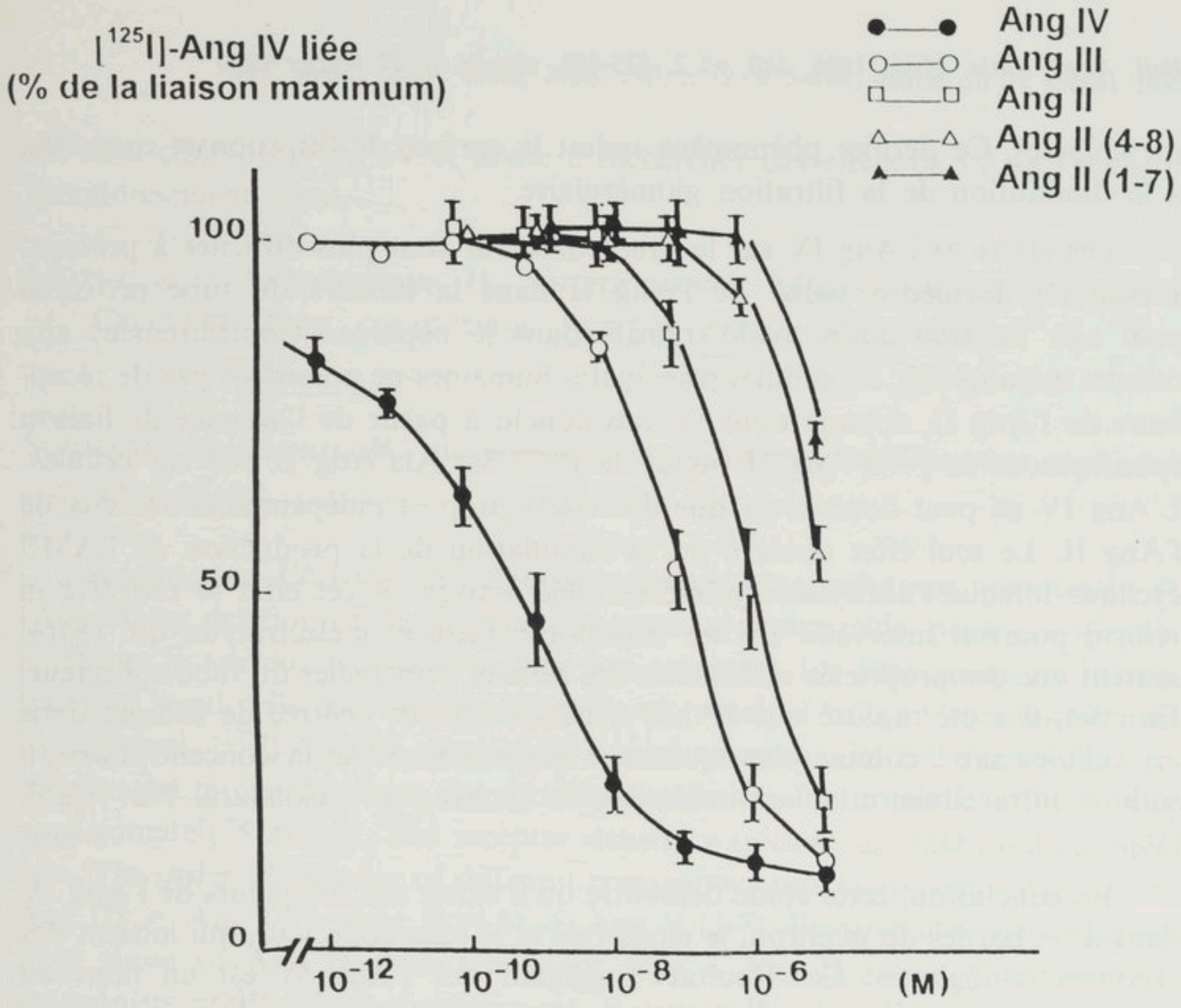



FIGURE 4. — Inhibition compétitive de la fixation de la [$^{125}$I]-Ang IV à ses sites de liaison sur des membranes préparées à partir de cellules du tube collecteur en présence de concentrations croissantes d'Ang IV non marquée et de peptides apparentés (haut), d'Ang IV non marquée et d'antagonistes non peptidiques des récepteurs de l'Ang II (bas).

mésangiales. Ce dernier phénomène réduit la surface de filtration et contribue à la diminution de la filtration glomérulaire.

Les effets de l'Ang IV sur le tube collecteur sont plus difficiles à préciser. L'Ang IV, formée à partir de l'Ang II dans la lumière du tube proximal peut agir en aval après avoir transité dans le néphron. Contrairement aux cellules mésangiales, les cellules principales humaines ne possèdent pas de récepteurs de l'Ang II, comme nous l'avons conclu à partir de l'absence de liaison spécifique de la [$^{125}$I]-Ang II ou de la [$^{125}$I]-Sar$^{1}$Ala$^{8}$Ang II sur ces cellules. L'Ang IV ne peut donc avoir que des effets propres indépendants de ceux de l'Ang II. Le seul effet observé est la stimulation de la production de l'AMP cyclique lorsque l'adénylate cyclase est déjà activée. Si cet effet se retrouve *in vivo*, il pourrait intervenir sur les transports d'eau et d'électrolytes qui représentent une des propriétés essentielles des cellules principales du tube collecteur. En effet, il a été montré que l'AMP cyclique activait l'entrée de sodium dans ces cellules avec, comme conséquence, l'augmentation de la concentration du sodium intracellulaire et la stimulation de l'échangeur basolatéral $Na^+/Ca^{2+}$ [16].

En conclusion, cette étude démontre qu'il existe des récepteurs de l'Ang IV dans deux parties du néphron, le glomérule et le tube collecteur, qui initient des réponses biologiques. Ces résultats suggèrent que l'Ang IV est un nouveau médiateur local issu du système rénine-angiotensine qui pourrait jouer un rôle dans le contrôle des fonctions rénales.

Résumé

L'angiotensine IV (Ang IV), hexapeptide dérivé de l'angiotensine II (Ang II) par délétion des deux premiers acides aminés N terminaux, possède des récepteurs spécifiques dans différents tissus. Notre but a été de rechercher de tels récepteurs dans deux types de cellules rénales, les cellules mésangiales de rat et les cellules principales du tube collecteur humain. La [$^{125}$I]-Ang IV se fixe spécifiquement à la surface des cellules mésangiales et sur les membranes préparées à partir des cellules principales. Dans les deux cas, l'affinité est voisine de 5 nmol/L et le nombre de sites de 1000 fmol/mg de protéine. L'ordre d'efficacité des différents peptides capables de déplacer le ligand du récepteur est le suivant : Ang IV > Ang III > Ang II > Ang II (4-8) > Ang II [1-7]. Les sites de liaison sont distincts de ceux de l'Ang II puisqu'il n'y a aucun déplacement par les antagonistes non peptidiques de type 1 ou 2 de l'Ang II. Réciproquement, l'Ang IV ne déplace pas l'Ang II de ses sites de liaison. L'Ang IV inhibe l'effet vasoconstricteur de l'Ang II sur les cellules mésangiales et augmente la production d'AMP cyclique dans les cellules principales, mais uniquement lorsque celle-ci a été préalablement activée. L'ensemble de ces résultats prouve que le néphron à ses deux extrémités, glomérule et tube collecteur, est

un tissu cible de l'Ang IV et invite à rechercher des effets de l'Ang IV sur le fonctionnement rénal.

MOTS-CLÉS : ANGIOTENSINE II. ANGIOTENSINES. MÉSANGIUM GLOMÉRULAIRE. CELLULES. TUBE COLLECTEUR. SYSTÈME RÉNINE ANGIOTENSINE.

SUMMARY : *Angiotensin IV, a new component of the renin angiotensin system with renal effects.*

Angiotensin IV (Ang IV), the hexapeptide obtained from angiotensin II (Ang II) by deletion of the first two N terminal aminoacids, possesses specific receptors in various tissues. Our aim was to search for such receptors in two types of renal cells, rat mesangial cells and principal cells of the human collecting duct. [$^{125}$I]-Ang IV specifically bound to mesangial cell surface and to membranes prepared from the principal cells. In both cases, affinity was approximately 5 nmol/L and receptor density was close to 1000 fmol/mg protein. The order of potency of different competitors was as follows : Ang IV > Ang III > Ang II > Ang II (4-8) > Ang II (1-7). Binding sites were distinct from those of Ang II since type 1 or type 2 Ang II receptor nonpeptidic antagonists produced no displacement. Reciprocally, Ang IV did not displace Ang II from its binding sites. Ang IV inhibited the vasoconstrictor effect of Ang II on rat mesangial cells and increased cyclic AMP production in principal cells, but only when it had been previously stimulated. Taken together, these results demonstrate that the glomerulus and the collecting duct represent target sites for Ang IV and suggest that Ang IV could influence the renal functions.

KEY-WORDS (Index Medicus) : ANGIOTENSIN II. ANGIOTENSINS. CELLS. GLOMERULAR MESANGIUM. KIDNEY TUBULES, COLLECTING. RENIN-ANGIOTENSIN SYSTEM.

## BIBLIOGRAPHIE

[1] BLAIR-WEST J.R., COGHLAN J.P., DENTON D.A., FUNDER J.W., SCOGGINS B.A., WRIGHT R.D. — The effect of the heptapeptide (2-8) and hexapeptide (3-8) fragments of angiotensin II on aldosterone secretion. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1971, *32*, 575-578.

[2] SWANSON G.N., HANESWORTH J.M., SARDINIA M.F., COLEMAN J.K.M., WRIGHT J.W., HALL K.L., MILLER-WING A.V., STOBB J.W., COOK V.I., HARDING E.C., HARDING J.W. — Discovery of a distinct binding site for angiotensin II (3-8), a putative angiotensin IV receptor. *Regul. Pept.*, 1992, *40*, 409-419.

[3] WANG L., EBERHARD M., ERNE P. — Stimulation of DNA and RNA synthesis in cultured rabbit cardiac fibroblasts by angiotensin IV. *Clin. Sci.*, 1995, *88*, 557-562.

[4] Dostal D.E., Murahashi T., Peach M.J. — Regulation of cytosolic calcium by angiotensins in vascular smooth muscle. *Hypertension*, 1990, *15*, 815-822.

[5] Stefanovic V., Vlahovic P., Ardaillou N., Ronco P., Ardaillou R. — Cell surface aminopeptidase A and N activities in human glomerular epithelial cells. *Kidney Int.*, 1992, *41*, 1571-1580.

[6] Ronco P., Antoine M., Baudouin B., Geniteau-Legendre M., Lelongt B., Chatelet F., Verroust P., Vandewalle A. — Polarized membrane expression of brush border hydrolases in primary cultures of kidney proximal tubular cells depends on cell differentiation and is induced by dexamethasone. *J. Cell Physiol.*, 1990, *145*, 222-237.

[7] Sraer J.D., Sraer J., Ardaillou R., Mimoune O. — Evidence for renal glomerular receptors for angiotensin II. *Kidney Int.*, 1974, *6*, 241-246.

[8] Baud L., Hagege J., Sraer J., Rondeau E., Perez J., Ardaillou R. — Reactive oxygen production by cultured rat glomerular mesangial cells during phagocytosis is associated with stimulation of lipoxygenase activity. *J. Exp. Med.*, 1983, *158*, 1836-1852.

[9] Prié D., Friedlander G., Coureau C., Vandewalle A., Cassingéna R., Ronco P.M. — Role of adenosine on glucagon-induced cAMP in a cortical collecting duct cell line. *Kidney Int.*, 1995, *47*, 1310-1318.

[10] Hall K.L., Hanesworth J.M., Ball A.E., Felgenhaner G.P., Hosick H.L., Harding J.W. — Identification and characterization of a novel angiotensin binding site in cultured vascular smooth muscle cells that is specific for the hexapeptide (3-8) fragment of angiotensin II, angiotensin IV. *Regul. Pept.*, 1993, *44*, 225-232.

[11] Chansel D., Badre L., Czekalski S., Vandermeersch S., Cambar J., Ardaillou R. — Intrinsic properties of the nonpeptide angiotensin II antagonist losartan in glomeruli and mesangial cells at high concentrations. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1993, *265*, 1534-1543.

[12] Chansel D., Czekalski S., Pham P., Ardaillou R. — Characterization of angiotensin II receptor subtypes in human glomeruli and mesangial cells. *Am. J. Physiol.*, 1992, *262* (Renal Fluid Electrolyte Physiol. 31) : F432-F441.

[13] Dulin N.O., Ernsberger P., Suciu D.J., Douglas J.G. — Rabbit renal epithelial angiotensin II receptors. *Am. J. Physiol.*, 1994, *267* (Renal Fluid Electrolyte Physiol. 36) : F776-F782.

[14] Hanesworth J.M., Sardinia M.F., Krebs L.T., Hall K.L., Harding J.W. — Elucidation of a specific binding site for angiotensin II (3-8), angiotensine IV, in mammalian heart membranes. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1993, *266*, 1036-1042.

[15] Saikaly M.G., Arant B.S. Jr, Seney F. Jr. — Endogenous angiotensin concentrations in specific intrarenal fluid compartments of the rat. *J. Clin. Invest.*, 1990, *86*, 1352-1357.

[16] Breyer M. — Feedback inhibition of cyclic adenosine monophosphate stimulated Na transport in the rabbit cortical collecting duct via Na+ dependent basolateral Ca2+ entry. *J. Clin. Invest.*, 1991, *88*, 502-510.

## DISCUSSION

M. Alain Larcan : Connaît-on d'autres récepteurs de l'angiotensine IV en dehors du néphron, en particulier dans le système nerveux central, comme cela a été montré pour l'angiotensine II ? A côté de l'effet sur le mésangium, l'an-

giotensine IV a-t-elle un effet sur les résistances pré- et post-glomérulaires ? Ces deux effets s'additionnent-ils ? Quel est le rôle de l'angiotensine IV dans le rétrocontrôle tubulo-glomérulaire ?

M. Roger NORDMANN : A la suite des nombreuses données nouvelles apportées par ce remarquable exposé, il apparaît qu'existent, au niveau des cellules mésangiales, à la fois des récepteurs de l'angiotensine II et de l'angiotensine IV. Estimez-vous qu'il existe un équilibre physiologique entre ces deux variétés et, si oui, quelle est l'action, sur cet équilibre, des inhibiteurs calciques ?

M. Jean-François CIER : Le travail que vous venez de présenter élargit le champ d'action du système rénine-angiotensine. Deux questions : 1) L'angiotensine IV inhibe, avez-vous dit, l'effet constricteur de l'angiotensine II sur les cellules mésangiales. Est-ce une inhibition compétitive, par compétition sur les récepteurs, ou une inhibition par antagonisme ? En d'autres termes, quel est l'effet propre de l'angiotensine IV sur les cellules mésangiales ? 2) La formation d'angiotensine IV est-elle ubiquitaire ? Et peut-on alors envisager des effecteurs de l'angiotensine IV autres que le rein et, peut-être, le cerveau ?

M. Gabriel RICHET : 1) Le récepteur de l'angiotensine IV a-t-il été purifié et cloné ? 2) Existe-il, en pathologie expérimentale ou humaine, des syndromes qui pourraient être dus à un excès ou à un défaut du système angiotensine IV-récepteur, en particulier des troubles de la régulation de la pression artérielle ou de l'équilibre du bilan du sodium ?

M. Claude MOLINA : Les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine utilisés aujourd'hui en pratique courante sont souvent responsables de toux, voire de bronchospasme. Peut-on mieux expliquer ces effets secondaires à la lumière des progrès de vos recherches ?

M. ARDAILLOU : — à M. Larcan : Des récepteurs de l'angiotensine IV ont été décrits dans le système nerveux central, en particulier dans le cortex cérébral, le cervelet, l'hippocampe et le thalamus. Les mêmes résultats ont été trouvés dans différentes espèces, rat, cobaye, lapin et singe. L'administration d'angiotensine IV dans l'artère rénale du rat produit une augmentation du flux sanguin cortical, secondaire à une diminution des résistances artériolaires. L'effet inhibiteur de l'angiotensine IV sur l'activité vasoconstrictrice de l'angiotensine II, que nous avons décrit dans les cellules mésangiales, devrait donc s'ajouter à l'effet précédent pour augmenter le débit de filtration glomérulaire. Le mécanisme du rétrocontrôle tubulo-glomérulaire n'est pas encore complètement élucidé. Il se pourrait que l'angiotensine IV intervienne, mais les derniers travaux insistent essentiellement sur le rôle de la production locale d'adénosine.

— à M. Nordmann : J'ai pu montrer que, dans les cellules mésangiales, l'angiotensine IV inhibait l'effet vasoconstricteur de l'angiotensine II par un mécanisme non encore élucidé. Il est certain que l'angiotensine II augmente la concentration de calcium cytosolique à la fois par mobilisation du calcium intracellulaire, à partir de ses sites de stockage, et par entrée du calcium extra-

cellulaire dans la cellule par la voie des canaux calciques. Les inhibiteurs calciques modifient l'entrée du calcium par les canaux dépendant du voltage. L'angiotensine II agit plus sur les canaux calciques liés à ses récepteurs que sur les canaux de type L soumis aux variations de potentiel électrique.

— à M. Cier : L'angiotensine IV n'inhibe pas compétitivement l'angiotensine II puisque les deux peptides ne reconnaissent pas les mêmes récepteurs. L'antagonisme se fait à une des étapes encore non connue de la signalisation intracellulaire. La formation d'angiotensine IV est ubiquitaire puisque les deux enzymes nécessaires à sa production, l'aminopeptidase A et l'aminopeptidase N, sont très répandues. En particulier l'angiotensine IV est formée dans différentes parties du système nerveux central.

— à M. Richet : Le récepteur de l'angiotensine IV n'a pas encore été purifié et cloné. Aucune maladie du système angiotensine IV-récepteur n'a été, à ce jour, identifiée. Le rôle physiologique de l'angiotensine IV pourra être déterminé lorsqu'on disposera de souris invalidées soit pour le gène du récepteur de l'angiotensine IV, soit pour les enzymes (aminopeptidase A et aminopeptidase N) nécessaires à la synthèse de ce peptide.

— à M. Molina : L'enzyme de conversion admet d'autres substrats que l'angiotensine I, en particulier la bradykinine et la substance P. Les inhibiteurs de l'enzyme de conversion produisent donc une augmentation de la concentration de ces deux peptides qui favorisent la toux. Une autre voie thérapeutique, celle des antagonistes compétitifs des récepteurs AT1 de l'angiotensine II comme le losartan, doit permettre de supprimer cet effet secondaire dans le traitement de l'hypertension artérielle. De plus, ces antagonistes, en agissant directement sur le récepteur, inhibent les effets de l'angiotensine II, quelle que soit son origine (voie de l'enzyme de conversion ou voie de la chymase).

*Bull. Acad. Natle. Méd.*, 1996, *180*, n° 2, 489-506, séance du 6 février 1996

# ACTES
# DE L'ACADÉMIE NATIONALE DE MÉDECINE

## Séance du 6 février 1996

*Présidence* de M. Maurice GUÉNIOT, *président*.

### CORRESPONDANCE OFFICIELLE

*Le ministre de l'Education nationale, de l'Enseignement supérieur et de la Recherche,* Bureau des personnels des grands établissements et des personnels à statuts spécifiques, adresse l'arrêté, en date du 9 janvier 1996, approuvant l'**élection de M. Paul Lechat, pour l'année 1996, en qualité de vice-président de l'Académie.**

### ÉLECTION

L'ordre du jour appelle l'élection d'un membre titulaire dans la IV^e^ section (Sciences biologiques), en remplacement de M. André DELMAS, nommé membre émérite.

La commission présente aux suffrages de l'Académie les candidats dans l'ordre suivant :

— en première ligne : M. Pierre TIOLLAIS,

— en deuxième ligne et par ordre alphabétique : MM. Raymond ARDAILLOU, Jean-Marie BOURRE, Jacques CAEN.

Il est procédé à un *premier tour* de scrutin qui donne les résultats suivants :

| | | |
|---|---|---|
| | — nombre de votants : | 92 |
| | — suffrages exprimés : | 92 |
| | — majorité : | 47 |
| ont obtenu : | MM. TIOLLAIS | 43 |
| | ARDAILLOU | 27 |
| | CAEN | 15 |
| | BOURRE | 7 |
| | | 92 |

*deuxième tour* :

| | | |
|---|---|---|
| | — nombre de votants : | 88 |
| | — suffrages exprimés : | 88 |
| | — majorité : | 45 |
| ont obtenu : | MM. TIOLLAIS | 60 |
| | ARDAILLOU | 20 |
| | CAEN | 6 |
| | BOURRE | 1 |
| | Bulletin blanc marqué d'une croix | 1 |
| | | 88 |

M. Pierre TIOLLAIS, ayant obtenu la majorité absolue des suffrages exprimés, est proclamé élu membre titulaire dans la IV^e^ section (Sciences biologiques).

Son élection sera soumise à l'approbation de Monsieur le Président de la République.

*Bull. Acad. Natle. Méd.*, 1996, *180*, n° 2, 489-506, séance du 13 février 1996

# Séance du 13 février 1996

*Présidence* de M. Maurice GUÉNIOT, *président*

---

Le Président fait les honneurs de la séance au professeur ZENG-YI, Président de l'Académie de Médecine Préventive, de Pékin.

---

## CORRESPONDANCE OFFICIELLE

*Le ministre du Travail et des Affaires sociales,* sous-direction de la Veille sanitaire, par lettre du 2 février 1996, adresse copie de l'arrêté en date du 29 janvier 1996, accordant **l'autorisation d'exploiter, en tant qu'eau minérale naturelle, à l'émergence et après transport à distance, l'eau du captage La Bonne Fontaine Charrier, situé à Laprugne (Allier).**

*Commission XI (Climatisme — Thermalisme — Eaux minérales)*

*Le ministre du Travail et des Affaires sociales,* sous-direction de la veille sanitaire, par lettre du 7 février 1996, adresse copie de l'arrêté en date du 1er février 1996 accordant l'**autorisation d'exploiter, en tant qu'eau minérale naturelle,**

**— après transport à distance l'eau du captage Petit-Escaldou,**

**— le mélange de l'eau des captages Fanny et Alcaline et le transport de l'eau de ce mélange,**

**— le mélange Le Vallon et le transport de l'eau de ce mélange, situés à Amélie-les-Bains, (Pyrénées-Orientales).**

*Commission XI (Climatisme — Thermalisme — Eaux minérales)*

---

*Bull. Acad. Natle. Méd.*, 1996, *180*, n° 2, 489-506, séance du 13 février 1996

## CORRESPONDANCE NON OFFICIELLE

L'Académie nationale de Pharmacie, par lettre du 5 février 1996 sous la signature de son Secrétaire Général, le Dr François Bourillet, adresse le texte d'un rapport, établi par sa Commission Recherche, intitulé « **Livre Blanc sur le Chapitre II de la loi de Bioéthique n° 94-654 du 29.07.1994** ».

M. Pierre TIOLLAIS (Paris), remercie pour son **élection au titre de membre titulaire dans la IV^e^ section.**

---

## PRESENTATION D'OUVRAGE

Gabriel RICHET présente : *L'Allergie à l'aube du 3^e^ millénaire*, par Claude MOLINA. — Montrouge : John Libbey, 1995, 200 p.

L'allergie exige aujourd'hui d'être exposée dans une monographie car elle a du mal à trouver sa place dans un ouvrage de pathologie interne. Sa sémiologie en effet est multiforme, souvent d'emprunt, propre à l'organe atteint et ses lésions rarement univoques. Ce qui fait d'elle un tout est un terrain génétique et un mécanisme immunologique générant en cascade une série d'intermédiaires chimiques, la cause première, spécifique pour chaque patient, étant un contact avec un antigène, au nombre illimité.

Les syndromes où l'allergie intervient sont sans cesse plus divers, leur identification reposant maintenant sur des bases scientifiques bien établies. En même temps s'est étendue la source des antigènes, la civilisation industrielle ajoutant chaque année son contingent. Rien de surprenant alors que la fréquence de la pathologie allergique ne fasse que croître, lui donnant un poids certain en médecine courante.

Le précis de Claude Molina tient compte de cet état de fait. Aux données cliniques et épidémiologiques traditionnelles sans cesse enrichies par l'investigation, il adjoint un exposé physiopathologique inséré dans les progrès de l'immunologie et de la génétique fondamentales, auxquels il consacre quatre chapitres. Ensuite, il aborde les méthodes modernes de diagnostic et le traitement.

Etudiants et médecins n'apprennent que ce qu'ils comprennent. Encore faut-il qu'ils aient un accès aisé aux connaissances de base leur permettant de comprendre. Il s'agit souvent de progrès récents de la biologie normale et pathologique qui ne sont jamais mieux mis à leur portée que dans un ouvrage où l'auteur s'est attaché à établir ce qui l'unit à la médecine. Avec bonheur, cette monographie a adopté ce style.

---

*Bull. Acad. Natle. Méd.*, 1996, *180*, n° 2, 489-506, séance du 13 février 1996

## COMITÉ SECRET

Georges CERBONNET : Rapport sur les candidatures :

1) à une place de membre titulaire dans la II^e^ section, en remplacement de M. Emile HERVET, décédé.

2) à deux places de correspondants nationaux dans la II^e^ division, en remplacement de M. Pierre AMALRIC, élu membre titulaire, et de M. Jean HERBERT, décédé.

*Bull. Acad. Natle. Méd.*, 1996, *180*, n° 2, 489-506, séance du 20 février 1996

# Séance du 20 février 1996

*Présidence* de M. Maurice GUÉNIOT, *président*

## CORRESPONDANCE OFFICIELLE

*Le ministre du Travail et des Affaires sociales,* sous-direction de la veille sanitaire, par lettre du 15 février 1996, adresse une étude clinique portant sur la fonction rénale et le métabolisme du cholestérol chez des patients hospitalisés afin que l'Académie puisse se prononcer, à nouveau, sur la **demande d'autorisation d'exploiter, comme eau minérale naturelle, à l'émergence, l'eau de la source Edelweiss située à Bonneval-les-Bains, commune de Bourg-Saint-Maurice (Savoie)**.

*Commission XI (Climatisme — Thermalisme — Eaux minérales)*

## CORRESPONDANCE NON OFFICIELLE

M. François GROS, Secrétaire perpétuel de l'Académie des Sciences, par lettre du 15 février 1996, invite à proposer, avant le 15 avril 1996, une ou deux candidatures en vue de l'attribution du **Prix Charles-Léopold Mayer 1996**. Ce prix, d'un montant de 250 000 F, a pour but d'aider au progrès scientifique et d'encourager des recherches fondamentales, particulièrement dans le domaine des sciences biologiques, biochimiques et biophysiques.

M. Pierre BANZET (Paris), Correspondant Ile-de-France dans la II^e^ division, pose sa **candidature à une place de membre titulaire dans la II^e^ section**.

M. Bernard LAUNOIS (Rennes), pose sa **candidature à une place de correspondant national dans la II^e^ division**.

*Bull. Acad. Natle. Méd.*, 1996, *180*, n° 2, 489-506, séance du 20 février 1996

## PRÉSENTATION D'OUVRAGES

André SICARD présente : *Travaux scientifiques des chercheurs du Service de Santé des Armées durant l'année 1994*. — Paris : Service de Santé des Armées, 1995, 334 p.

Le Service de Santé des Armées publie chaque année les travaux scientifiques effectués par ses chercheurs. Ce volume réunit ceux de 1994. Riche de plus de 300 pages, il témoigne, comme les précédents, du dynamisme dans la recherche et dans l'amélioration du soutien sanitaire dans tous les domaines, et en particulier dans ceux de la biotechnologie.

Assurant les missions qui lui sont confiées, le Service de Santé des Armées a porté pendant l'année ses principaux efforts sur la recherche biomédicale de défense et plus spécialement sur les effets des irradiations et les méthodes de protection.

Cette publication fait honneur au Service de Santé des Armées. Elle présente un intérêt d'autant plus grand que plusieurs d'entre nous ont eu le privilège d'être reçus par le Médecin Général Inspecteur Court dans son Centre de La Tronche. Ils se souviennent d'avoir constaté, non seulement la diversité des recherches de haut niveau et la qualité du matériel, mais aussi l'enthousiasme et la passion avec lesquels travaillent les très nombreux chercheurs, souvent jeunes, quelques-uns appartenant à la médecine civile.

C'est pour moi l'occasion d'apprécier les liens qui unissent si souvent la médecine militaire et la médecine civile.

André THOMAS présente : *Les Conférences de la Société Philomathique de Paris*, t. V, sous la dir. de J. André THOMAS. — Paris : Klincksieck, 1995, 125 p.

J'ai le plaisir de présenter à l'Académie le tome V des Conférences de la Société Philomathique de Paris.

Je rappelle seulement que cette Société scientifique, au passé prestigieux, est parmi les plus anciennes de France et qu'elle est essentiellement pluridisciplinaire [1]. Les plus grands savants en ont été les animateurs.

Le tome V apporte, en préliminaire, à l'occasion du centenaire de la mort de Louis Pasteur, un court essai sur la restauration de sa maison familiale. A cette occasion, sont évoqués quelques grands souvenirs d'ordre psychologique

1. André Thomas (sous la direction de). La Société Philomathique de Paris et deux siècles d'histoire de la Science en France. Colloque du Bicentenaire de la Société Philomathique de Paris. PUF, édit. 1990, 154 p.

André Thomas (sous la direction de). Les Conférences de la Société Philomathique de Paris. Paris : Klincsieck éd., Tome II, 1992, 119 p. ; Tome III, 1993, 74 p. ; Tome VI, 1994, 143 p.

de l'épopée pasteurienne. Ils sont prêtés à Pasteur comme s'il se retrouvait dans sa maison restaurée.

Ce tome V groupe quatre chapitres très différents les uns les autres, selon la tradition philomathique de pluridisciplinarité. Ces chapitres portent sur :

1 — la matière sombre dans l'univers,

2 — le peuplement des abysses et un nouveau mécanisme de la vie fondé sur l'oxydation ménagée de l'hydrogène sulfuré,

3 — les nouvelles grosses molécules de Carbone pur, appelées les « Fullérènes »,

4 — les mouvements relativistes dit « superluminiques » dans notre galaxie et les « microquazars ».

Dans le premier chapitre, Jean-Pierre Luminet pose les termes actuels d'un problème qui n'a pas encore trouvé sa solution : quelle est l'importance de la matière dite « sombre », ou « cachée », inaccessible à notre observation électromagnétique et dont peut dépendre le destin de notre univers (soit fermé, soit ouvert, soit en expansion rapide, ou ralentie ?).

On est conduit à admettre que le halo de matière sombre qui entoure les galaxies est dix fois plus massif que ce que l'on peut observer. De même, les amas de galaxies contiennent au moins dix fois plus de matière sombre que de matière lumineuse. Plus de 90 % de la masse de l'univers échappe à notre observation.

Y a-t-il suffisamment de matière dans l'univers pour que son expansion s'arrête ? Ce qui nous paraît être le vide cosmique presque parfait pourrait représenter un « trop plein » suffisant pour que l'espace s'effondre sur lui-même.

Les astres massifs et invisibles qui constitueraient la matière sombre pourraient être, soit des « trous noirs », soit des étoiles « froides », trop petites pour qu'elles allument d'elles-mêmes des réactions nucléaires, ou soit encore, simplement, des poussières, ou des « particules exotiques ». On appelle ces étoiles des naines brunes, ce sont des étoiles « ratées ».

Il est peu probable que les trous noirs puissent apporter une contribution significative à l'explication de la nature de la matière sombre : leur densité de masse ne serait pas suffisante.

Par contre, les naines brunes, qui surpeuplent notre galaxie, seraient peut-être de bonnes candidates à cette explication.

Dans le deuxième chapitre, M. Lucien Laubier nous fait plonger dans les abysses océaniques et nous montre, non seulement un aspect de leur peuplement étrange, actuel au-delà de ce que l'on savait, mais aussi un nouveau mécanisme de ce que nous appelons la vie.

*Bull. Acad. Natle. Méd.*, 1996, *180*, n° 2, 489-506, séance du 20 février 1996

Les grandes étapes de l'exploration du milieu marin profond ont débuté à l'occasion de la pose des câbles interocéaniques, puis des plongées de divers navires sous-marins (« Archimède » a atteint la profondeur de 9 600 mètres, en 1962), enfin de l'étude de la « tectonique des plaques » (création de la croûte terrestre, enfouissement, etc.). Avec les sous-marins de nouvelle génération (« Alvin », « Nautile », etc.), les observateurs ont pu vérifier que la vie ne connaît pas de frontières abyssales et qu'elle persiste dans les fosses extrêmes. Elle y adopte des formes étranges : actinie à tentacules géants atteignant un mètre cinquante d'envergure, pantopode de un mètre de diamètre, avec longues pattes filiformes, poisson dont les premières nageoires ventrales se sont démesurément allongées et qui progresse comme monté sur des échasses, etc.

Mais ce qui est essentiel, est la découverte, en 1976-1977, à la dorsale des Galápagos, par 2 600 m de profondeur, de colonies de nombreux animaux vivants que Laubier a désignées comme « oasis abyssales ». Ce sont, en quelque sorte, des îlots de vie disséminés sur des fonds plus ou moins désertiques. De tels îlots d'êtres vivants se forment non loin des évents des fluides hydrothermaux, qui sont initialement à fortes températures (vers 370°C). Ces fluides translucides et l'eau de mer précipitent en particules noires (notamment « fumeurs noirs » de sulfure de Fer) et construisent des édifices pittoresques, comme des piliers, des tours, des cheminées, etc.

La faune de tels îlots est soumise, dans son ensemble, à des cycles de quelques décennies, avec des phases de disparition et de réapparition. Finalement, ne restent d'elles que des cimetières de coquillages, les formations biologiques se créant dans de nouveaux îlots.

A la périphérie des îlots, sont répartis notamment de petits vers annelés, munis de branchies, enfoncés partiellement dans des tubes calcaires fixés au sol de lave. Mais ce sont les régions plus centrales des îlots qui sont absolument caractéristiques. De grands vers, de l'ordre d'un mètre et demi de long et de quelques centimètres de diamètre, recouverts d'une coque rigide, attachée au sol, forment des buissons dressés verticalement. Ils sont nommés « Riftias ». La surprise a été que ces organismes n'ont aucun tube ou organe digestif. Ils ont des branchies, du sang rouge, des lacunes sanguines et surtout, un organe caractéristique volumineux, richement vascularisé, qui occupe environ le tiers de leur corps. Or, les cellules de cet organe renferment chacune et toujours, un corpuscule qui, à l'analyse, est formé d'un agrégat de bactéries. Celles-ci se multiplient puis dégénèrent, entraînant la destruction des cellules.

Ces bactéries sont responsables des synthèses complexes de la matière organique qui constitue principalement les Riftias. Disons, pour simplifier, que par oxydation ménagée de l'hydrogène sulfuré, elles produisent de l'énergie chimique et la stocke en molécules organiques (ATP, NaDPH,...) ; elles assurent la fixation et la réduction du carbone minéral sous forme de composés précurseurs en C4. En fin de compte, cette énergie chimique dérivant indirectement des

sources hydrothermales abyssales se substitue, de façon exclusive, à la photosynthèse. Ce processus a été confirmé par l'expérience au laboratoire.

Ces bactéries sont-elles de vrais symbiotes ? Elles proviennent vraisemblablement d'une même souche, comme l'établirait la séquence de leur ADN. Par contre, elles n'infecteraient que secondairement les Riftias. Le jeune ver de 2 microns est encore indemne de ces bactéries ; de plus, il possède un tube digestif cilié : celui-ci se développe progressivement, puis dégénère.

Corrélativement, ces vers abyssaux montrent des propriétés particulières, par exemple, une thermorésistance qui, expérimentalement, s'est étendue jusqu'à 103°C. Pour certains, même, leur carbone paraîtrait différent de celui qui compose les autres êtres vivants.

De tels animaux abyssaux n'existent pas seulement sur les fonds de l'océan Pacifique : on observe des îlots de type assez analogue dans certains abysses de l'océan Atlantique. Mais les différences sont grandes. Leurs évents hydrothermaux peuvent produire non du sulfure de Fer, mais du sulfate de Calcium. On n'a pas décrit, semble-t-il, d'organe différencié à bactéries chimiosynthétiques. Par contre, des voiles bactériens épiphytes seraient composés d'archéobactéries, etc.

Quoi qu'il en soit, le phénomène de production de matière organique chez des êtres vivants par un mécanisme chimiosynthétique, à l'exclusion de la photosynthèse, présente des caractères de généralité.

Dans le troisième chapitre, M. Sidney Leach analyse les nouvelles et extraordinaires molécules de carbone pur, dites les Fullérènes, et envisage leurs potentialités.

On ne connaissait comme carbone pur que le graphite (structure en plans ductiles) et le diamant (structure rigide en tétraèdres). L'existence des fullérènes ne remonte qu'à 1985 ; ils ont été conçus par un architecte (B. Fuller).

Ce sont des molécules compactes en forme de cages sphériques fermées ne contenant que des atomes de carbone, sans liaisons libres.

Le principal fullérène est en C60. C'est un icosaèdre tronqué comprenant 12 pentagones et 20 hexagones ; il mesure 7,1 A de diamètre. Une telle répartition existe dans la nature, par exemple chez le protozoaire Aulania.

On a reformé des fullérènes en laboratoire. Ils réagissent très facilement avec des radicaux libres. Ils sont insolubles dans l'eau et les solvants polaires.

Des atomes, voire des molécules, peuvent se former à l'intérieur des fullérènes. Ils peuvent être incorporés à du tritonX et à des liposomes de phosphatydilcholine, sous forme d'agrégats. Les fullérènes peuvent agir comme précurseurs de processus de transfert d'électrons, conduisant à la création d'un photocourant par sauts d'électrons.

On peut aussi les lier à divers radicaux, notamment halogénés, à des dérivés organométalliques, etc. On peut les polymériser. Enfin, ils pourraient entrer en compétition avec le site actif de certaines enzymes.

Dans le dernier chapitre, M. Félix Mirabel nous ramène à l'astronomie.

Les trous noirs supermassifs existeraient dans de nombreuses galaxies ; ils se constitueraient par l'accrétion de toute matière à leur portée, étoiles, gaz, jusqu'aux photons : ils atteindraient une masse de plusieurs millions de fois celle de notre Soleil.

Ils sont invisibles au télescope ; mais l'accrétion de matière se manifeste par des rayonnements $\times$ et $\gamma$. Or, le précieux télescope Sigma, pendant ses cinq années de vie, a été apte à capter et localiser les rayons $\gamma$ émis près des centres galactiques. Ces rayons représenteraient la signature de l'annihilation d'électrons par des antiélectrons ou positrons.

De telles sources d'antimatière, le « grand annihilateur », sont à l'origine de jets radiaux rectilignes, antisymétriques, émis perpendiculairement au disque d'accrétion. Ces jets sont discontinus. Ils ont été appelés par MM. Mirabel et Rodriguez : « microquazars » (1992). Alors que les quazars sont à l'échelle galactique, les microquazars seraient à l'échelle stellaire, c'est-à-dire un million de fois plus petits. Ils seraient situés aux confins de notre univers. Les éjections de plasma, interprétées comme une élimination de matière, correspondraient à des particules à vitesses relativistes, répandues sur trois années-lumière, comme émissions synchrotons.

Or, l'observation et le calcul montrent que les sources de rayons $\gamma$ se décalent et ont une vitesse relativiste supérieure à celle de la lumière. Si on les enregistre toutes les semaines, par exemple, on peut voir qu'à un objet arrondi, succèdent deux objets qui se séparent et s'écartent l'un de l'autre. Puis apparaît un nouvel objet, qui à son tour se divise, à la même vitesse, etc.

La vitesse des éliminations axiales relativistes est-elle « superluminique » ou est-elle illusoire ? Elle correspondrait, d'après les calculs, à une vitesse réelle égale à 92 % de celle de la lumière.

Nous constatons, d'après la présentation de ces quatre chapitres, l'extrême pluridisciplinarité de la Société Philomathique de Paris, ainsi que son actualité.

Ces articles sont œuvres de spécialistes, créateurs éminents. Ils sont écrits clairement et sont particulièrement novateurs. Chacun pourra y trouver des notions à la pointe des Sciences. Tout esprit épris de culture générale pourra y prendre intérêt.

*Bull. Acad. Natle. Méd.*, 1996, *180*, n° 2, 489-506, séance du 20 février 1996

## ÉLECTIONS

L'ordre du jour appelle l'élection :

1) d'un membre titulaire dans la II[e] section (Chirurgie et spécialités chirurgicales), en remplacement de M. Emile HERVET, décédé

La commission présente aux suffrages de l'Académie les candidats dans l'ordre suivant :

— en première ligne : M. Philippe BLONDEAU,

— en deuxième ligne et par ordre alphabétique : MM. Michel ARSAC, Jacques BARRAT, Claude KÉNÉSI, Jean MOREAUX, Jean SENÈZE.

Il est procédé à *un premier tour* de scrutin qui donne les résultats suivants :

| | | | |
|---|---|---|---|
| | — nombre de votants : | | 89 |
| | — suffrages exprimés : | | 89 |
| | — majorité : | | 45 |
| ont obtenu : | MM. | MOREAUX | 36 |
| | | BLONDEAU | 22 |
| | | BARRAT | 15 |
| | | ARSAC | 10 |
| | | KÉNÉSI | 3 |
| | | SENÈZE | 3 |
| | | | 89 |
| *deuxième tour :* | — nombre de votants | | 88 |
| | — suffrages exprimés : | | 88 |
| | — majorité : | | 45 |
| ont obtenu : | MM. | MOREAUX | 51 |
| | | BLONDEAU | 30 |
| | | BARRAT | 5 |
| | | ARSAC | 1 |
| | | KÉNÉSI | 1 |
| | | | 88 |

M. Jean MOREAUX, ayant obtenu la majorité absolue des suffrages exprimés, est proclamé élu membre titulaire dans la II[e] section (Chirurgie et spécialités chirurgicales).

Son élection sera soumise à l'approbation de Monsieur le Président de la République.

2) de deux correspondants nationaux dans la II^e^ division, en remplacement de M. Pierre AMALRIC, élu membre titulaire, et de M. Jean HERBERT, décédé.

MM. Paul MALVY (Nantes) et Maurice-Antoine BRUHAT (Clermont-Ferrand), sont élus.

*Bull. Acad. Natle. Méd.*, 1996, *180*, n° 2, 489-506, séance du 27 février 1996

# Séance du 27 février 1996

*Présidence* de M. Maurice GUÉNIOT, *président*

## NÉCROLOGIE

Le Président annonce le décès, survenu à Toulouse, le 23 février 1996, du professeur Jacques GADRAT, correspondant national dans la 1re division.

Dès 1949, Jacques Gadrat a dirigé successivement, à la Faculté de Médecine de Toulouse, la chaire de Thérapeutique, puis la chaire de Clinique Médicale.

Ses travaux, pour la plupart anatomo-cliniques, touchent pratiquement tous les domaines de la pathologie, avec une certaine préférence pour les affections de la peau et du sang.

Orienté vers la dermatologie par son maître Audry, il qualifie d'« inaugural » un érythème qui précéda de deux mois l'explosion d'une miliaire généralisée, à une époque où la notion clinique de primo-infection n'était pas encore bien établie. En 1937, il décrit, avec Nanta, le granulome éosinophilique de la peau.

Il s'attache tout particulièrement à l'étude de l'hypertension essentielle chez l'enfant, l'oedème aigu rhumatismal, les lésions artérielles dans la myocardite de même nature.

Une partie importante de ses travaux est consacrée aux hématodermies et aux hémopathies, parmi lesquelles il faut citer une publication très originale sur la syphilis tertiaire de la rate avec hypersplénisme secondaire, qui voisine avec des études d'ensemble comportant, en moyenne, plus d'une centaine de cas sur les neutropénies de l'adulte, la leucémie myéloïde chronique, la leucose lymphoïde chronique et les leucoses aiguës de l'adulte.

En 1952, il publie la première observation française d'hyperlipémie essentielle.

L'étude des dyslipoïdoses cutanées le conduit à préciser le retentissement sur le foie, puis sur le pancréas, de ces déviations métaboliques.

L'Académie adresse ses sincères condoléances à tous les siens.

*Bull. Acad. Natle. Méd.*, 1996, *180*, n° 2, 489-506, séance du 27 février 1996

## CORRESPONDANCE OFFICIELLE

*Le ministre de l'Economie et des Finances,* Direction générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des fraudes, sollicite, par lettre du 16 février 1996, l'avis de l'Académie sur deux **projets d'arrêtés relatifs aux teneurs maximales en résidus de pesticides admissibles dans ou sur certains produits d'origine végétale et dans ou sur les céréales destinées à la consommation humaine**.

*Commission X (Nutrition — Alimentation)*

*Le ministre du Travail et des Affaires sociales,* Sous-direction de la Veille sanitaire, par lettre du 21 février 1996, adresse copie de l'arrêté, en date du 19 février 1996, accordant l'**autorisation d'exploiter, comme eau minérale naturelle, à l'émergence et après transport à distance, l'eau du captage Alienor d'Aquitaine situé à Dax (Landes).**

*Commission XI (Climatisme — Thermalisme — Eaux minérales)*

*Le ministre du Travail et des Affaires sociales,* Sous-direction de la Veille sanitaire, par lettre du 19 février 1996, sollicite l'avis de l'Académie sur la demande d'**autorisation d'exploiter, à l'émergence, après transport à distance, traitement et embouteillage, l'eau du captage Vernet-Ouest, situé à Prades (Ardèche).**

*Commission XI (Climatisme — Thermalisme — Eaux minérales)*

---

## CORRESPONDANCE NON OFFICIELLE

M. Bernard Glorion, Président du Conseil national de l'Ordre des Médecins, par lettre du 15 février 1996, souhaite que soit définie, lors d'une rencontre, une position commune sur « **l'ostéopathie** », tant en ce qui concerne son enseignement que la position à adopter devant les instances européennes concernées.

Le Professeur Auquier est mandaté pour suivre cette question.

M. René Gouarne, Président du Groupement des Intellectuels Aveugles ou Amblyopes, sollicite, par lettre du 19 février 1996, l'**attribution d'un prix** en reconnaissance de l'action de son association dans la promotion des techniques de compensation du handicap à l'usage des Intellectuels Aveugles ou Amblyopes.

*Bull. Acad. Natle. Méd.*, 1996, *180*, n° 2, 489-506, séance du 27 février 1996

M. François DUBOIS (Paris) pose sa **candidature à une place de membre titulaire dans la II^e^ section.**

M. Daniel LOISANCE (Créteil) pose sa **candidature à une place de correspondant Ile-de-France dans la II^e^ division.**

M. Jean MOREAUX (Paris) remercie pour son **élection au titre de membre titulaire dans la II^e^ section.**

M. Maurice Antoine BRUHAT (Clermont-Ferrand) remercie pour son **élection au titre de correspondant national dans la II^e^ division.**

M. Paul MALVY (Nantes) remercie pour son **élection au titre de correspondant national dans la II^e^ division.**

---

## PRÉSENTATION D'OUVRAGES

Léon LE MINOR présente : *Antisepsie et désinfection*, par J. Fleurette, J. Freney, M.E. Reverdy. — Paris : Eska et Alexandre Lacassagne, 1995, 639 p.

L'antisepsie et la désinfection ont toujours joué un rôle important dans la lutte contre les maladies infectieuses ; c'est surtout au XIX^e^ et au XX^e^ siècles, avec les progrès de la Chimie, de la Pharmacie et de la Microbiologie qu'ont été établis les concepts et rédigées les règles d'utilisation, en médecine et chirurgie, des antiseptiques et désinfectants.

La révolution que constitua l'introduction des antibiotiques mit quelque peu dans l'ombre l'intérêt que présentaient les antiseptiques et désinfectants, à titre thérapeutique — ce qui était justifié —, et à titre préventif — ce qui l'était moins.

Les nouvelles techniques médicales qui, certes, sont auréolées de réussites spectaculaires, présentent une complexité croissante et un caractère invasif de plus en plus marqué, entraînant des risques infectieux importants dont rend compte l'incidence élevée des infections nosocomiales. La nécessité, imposée par l'éthique médicale et le législateur, de lutter énergiquement contre ces infections mobilise toutes les ressources parmi lesquelles l'antisepsie et la désinfection ont une place décisive.

L'ouvrage présenté, qui en 639 pages rassemble les connaissances actuelles sur le sujet, est composé de quatre parties.

La première est faite de plus de 60 pages traitant les bases fondamentales de l'action antimicrobienne des antiseptiques et désinfectants : mécanismes d'action, résistance microbienne à l'action de ces substances et méthodes d'étude de leur activité *in vitro*.

La deuxième partie rassemble, en 270 pages, les caractéristiques physico-chimiques, le mécanisme et le spectre d'activité antimicrobiens, la pharmacologie, la toxicologie et les circonstances d'utilisation des principales familles chimiques d'antiseptiques et désinfectants.

La troisième partie est consacrée à l'antisepsie, avec trois chapitres de 130 pages au total, présentant des notions fondamentales (flores microbiennes commensales de la peau et des muqueuses, absorption percutanée et toxicologie clinique des antiseptiques) ; le dernier chapitre traite de l'antisepsie en pratique médicale.

La quatrième partie est consacrée à la désinfection. Le premier chapitre est fait de 83 pages et traite de la pratique hospitalière ; les trois derniers chapitres présentent la désinfection dans l'industrie alimentaire, l'industrie pharmaceutique et celle des biotextiles.

La cinquième partie traite de la normalisation et des difficultés rencontrées pour obtenir un consensus européen sur les méthodes d'évaluation *in vitro* et surtout *in vivo*.

L'ouvrage résulte de la collaboration de 23 auteurs, spécialistes et praticiens de leur discipline : microbiologistes, pharmacologues, toxicologues, hygiénistes, pharmaciens.

Il apporte au lecteur de langue française une actualisation approfondie des connaissances fondamentales et pratiques dans le domaine de l'antisepsie et de la désinfection, et aussi des notions rarement réunies sur la pharmacologie et la toxicologie, ainsi que des applications nouvelles, telles que les biotextiles.

Ce livre est destiné à un large public de scientifiques et de professionnels impliqués dans la prévention de l'infection : médecins et chirurgiens engagés dans la lutte contre les infections nosocomiales, hygiénistes, infirmières, enseignants et étudiants, chercheurs universitaires et industriels. Si dans ses chapitres d'applications pratiques, le livre est surtout orienté vers la santé humaine, les notions fondamentales qu'il développe intéressent aussi les scientifiques et praticiens d'autres domaines d'activité, comme la clinique vétérinaire et l'industrie agro-alimentaire.

L'ouvrage *Antisepsie et Désinfection* répond donc à un besoin de connaissances générales et pratiques exprimé par un large public soucieux de lutter efficacement contre la recrudescence actuelle des infections d'origine bactérienne, virale et fongique.

Louis ROCHE présente : *Droit infirmier*, par Gilles Devers, préface de Madame Simone Veil. — Paris : Eska et Alexandre Lacassagne, 1996, 248 p.

Gilles Devers a la double expérience des salles de soins à l'hôpital et des audiences des tribunaux : infirmier pendant ses études de Droit, avocat depuis 10 ans, il a orienté ses études juridiques dans ce domaine.

L'ouvrage comprend 4 parties :

— Une introduction au Droit, avec la présentation du système juridictionnel et les institutions de Santé Publique dont dépendent les infirmières.

— Le statut, qui nécessite l'obtention d'un diplôme (unique actuellement avec suppression de la dualité diplôme d'état et diplôme de secteur psychiatrique), après une formation d'une durée de 3 ans dans une école agréée.

La définition donnée par la loi est la suivante : « exerce la profession d'infirmier toute personne qui donne habituellement des soins infirmiers, sur prescription ou conseil médical, ou bien en application du rôle propre qui lui est dévolu ; participe à des actions de prévention et d'éducation de la santé ».

Les modalités d'exercice sont triples :

- libéral, après inscription à la Préfecture, convention avec la Sécurité Sociale limitant le nombre des actes, expérience professionnelle de 3 ans ;
- fonction publique hospitalière (création de services de soins infirmiers) ;
- exercice salarié.

— Règles professionnelles : l'activité concerne les soins propres, sur prescription médicale, à condition qu'un médecin puisse intervenir à tout moment (infirmière anesthésiste), en présence d'un médecin ; un décret a précisé la longue liste des actes entrant dans ces 4 groupes.

— La déontologie, prévue par le décret du 16 février 1993 ; les grands principes médicaux sont rappelés : libre consentement, information, secret professionnel, pas d'activité commerciale, etc.

La responsabilité de l'infirmière est longuement étudiée : contentieux devant la Commission de Discipline Régionale (Préfecture), la Sécurité Sociale, sanction d'un agent public ; judiciaire avec une étude détaillée de la procédure en demande et en défense d'une part, suivant la juridiction : pénale, civile, administrative, d'autre part.

Cet ouvrage fondamental, pratique, complet, est utile à tous les membres des professions de soins, y compris en ce qui concerne les relations entre médecin et infirmier.

## Abonnements/Subscriptions 1996

| | *France Zone Franc* | *Autres pays* |
|---|---|---|
| Un an *(Annual Subscription)* 9 numéros ..... | 650 *FF* | 700 *FF* |

*Adresser le paiement à l'ordre de : Address payment to the order for :*

*Académie Nationale de Médecine*
*16, rue Bonaparte — 75272 Paris Cedex 06*

- *Les abonnements partent du premier numéro de l'année : Subscriptions begin with the first issue of calendar year.*
- Les réclamations pour les numéros non reçus doivent parvenir dans un délai maximum de six mois après la parution *: Claims may be submitted to the publisher for missing issues for a period of 6 months after publication of each individual issue.*

*Numéros séparés de l'année et volumes antérieurs* (jusqu'à épuisement du stock)/*Back issues and Volumes :*

Académie Nationale de Médecine
16, rue Bonaparte
75272 Paris Cedex 06
Tél. (1) 42.34.57.70
Fax (1) 40.46.87.55

*Printed in France* *Le Directeur de la publication* M. Raymond BASTIN.

Tous droits de traduction, d'adaptation et de reproduction par tous procédés réservés pour tous pays.

La loi du 11 mars 1957 n'autorisant, aux termes des alinéas 2 et 3 de l'article 41, d'une part, que les « copies ou reproductions strictement réservées à l'usage privé du copiste et non destinées à une utilisation collective », et d'autre part, que les analyses et les courtes citations dans un but d'exemple et d'illustration, « toute représentation intégrale, ou partielle, faite sans le consentement de l'auteur ou de ses ayants droit ou ayants cause, est illicite » (alinéa 1er de l'article 40).

Cette représentation ou reproduction, par quelque procédé que ce soit, constituerait donc une contrefaçon sanctionnée par les articles 425 et suivants du Code pénal.

© 1996, Académie de Médecine, Paris

Imprimé par l'Imprimerie F. Paillart
86, chaussée Marcadé 80100 Abbeville
Académie de Médecine, éditeur, Paris — Dépôt légal 2e trimestre 1996 — N° 0190.
commission paritaire n° 787 AD